



## Inmovilización covalente de lacasas en nanopartículas de ZnO, TiO<sub>2</sub> y CuO para diferentes aplicaciones biotecnológicas

Iris Arvizu de León<sup>2a</sup>, Bernardo García-Reyes<sup>2a</sup>, Alcione García-González \*

<sup>a</sup>Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, Av. Universidad S/N Ciudad Universitaria, 66455, San Nicolás de los Garza, N.L., México.

\*[alcione.garciagn@uanl.edu.mx](mailto:alcione.garciagn@uanl.edu.mx)

**Palabras clave:** Lacasas, óxido metálicos, inmovilización

### Introducción

Las lacasas son enzimas que pertenecen a la familia de las oxidasas multicobre (1), catalizan la oxidación de un amplio rango de compuestos lo cual las convierte en un tipo de enzimas con gran interés de estudio tanto en degradación/oxidación de sustancias, así como en procesos catalíticos (2). Sin embargo, su baja estabilidad ante condiciones adversas y su alto costo de producción limitan su empleo. La inmovilización de las lacasas puede superar alguna de las limitaciones anteriormente expuestas, mejorando significativamente sus propiedades enzimáticas en cuanto a estabilidad en un rango más amplio de pH, temperatura y la recuperación de la enzima del efluente de origen (3) siendo así más atractivas para usarse a nivel industrial. Algunas de las aplicaciones más importantes de las lacasas son la deslignificación de la pulpa en el procesamiento del papel, en la hidrólisis de residuos lignocelulósicos para la generación de biocombustibles y detección de compuestos fenólicos durante el procesamiento de bebidas, el tratamiento de aguas contaminadas con colorantes sintéticos, fármacos, hormonas esteroideas, pesticidas y herbicidas clorados, entre otras.(4) el objetivo de este proyecto fue inmovilizar lacasas en tres óxidos metálicos (ZnO, TiO<sub>2</sub> y CuO) se evaluar el efecto de la inmovilización en la estabilidad.

### Metodología

Las nanopartículas de óxido metálico (ZnO, TiO<sub>2</sub> y CuO) se modificaron químicamente con 3-aminopropiltrimetoxisilano (APTMS) y posteriormente se pusieron en contacto con glutaraldehído como agente de enlace para la inmovilización de lacasa. Se probaron cinco diferentes concentraciones (0.3, 0.6, 1, 1.3 y 1.6 mg/g de material) de lacasa de *Trametes versicolor* para realizar la inmovilización y se realizaron pruebas de estabilidad de los materiales con enzima inmovilizada a diferentes temperaturas (25°C, 35°C, 45°C, 55°C) y pH (3, 4, 5, 7 y 8). La actividad enzimática se determinó por el método de ABTS y la proteína con Bradford. Los materiales fueron caracterizados mediante espectroscopia infrarroja (FTIR-ATR), mediciones de potencial zeta, difracción de rayos X (XRD) y microscopía electrónica de barrido (SEM).

### Resultados y discusión

Las nanopartículas de ZnO presentaron la mayor capacidad de inmovilización de lacasa con un 98% de retención de enzima, seguido por el CuO que presentó un 78% y finalmente el TiO<sub>2</sub> con 69.30% de enzima retenida. El máximo porcentaje de inmovilización coincide con la máxima modificación química alcanzada, ya que el ZnO obtuvo el potencial Z más positivo posterior a su modificación química superficial. El biomaterial (óxido metálico-lacasa) que obtuvo mejor estabilidad a cambios de temperatura y pH fue el TiO<sub>2</sub>, ya que su mejor actividad fue a 55 °C y un pH de 3, seguido por el ZnO a 45 °C y un pH de 4,

finalmente para el CuO la mejor actividad fue a 35 °C y a un pH

de 5 como lo reportan Khakshoor *et.al* 2021 después de llevar a cabo la inmovilización. Estos porcentajes fueron los obtenidos con las mayores concentraciones de inmovilización de 1.6 mg/g de material. En el caso de las caracterizaciones a los materiales por FTIR-ATR se reveló que los grupos funcionales de amina se unieron a las nanopartículas presentando picos a 1600 cm<sup>-1</sup> y 1200 cm<sup>-1</sup> que están asociados a vibraciones N-H y C-N característicos de una amina secundaria Li *et.al* 2017. Los patrones de XRD confirman que la fase cristalina se mantuvo igual después de la inmovilización y en SEM se aprecia que el tamaño de las partículas aumentó después de la modificación química.

### Conclusiones

El ZnO fue el material en el que se logró inmovilizar mayor porcentaje de lacasa un 98% seguido de CuO con 78%, TiO<sub>2</sub> con 69.30%. Sin embargo, el TiO<sub>2</sub> mostró mejor estabilidad a cambios de temperatura y pH.

El ZnO fue el material que logró una mayor incorporación de grupos funcionales según el valor obtenido en el potencial ζ, y coincidió que es el que obtuvo una mayor retención de la actividad enzimática de lacasas, lo que demostró que la enzima se une químicamente al material.

La modificación química realizada a las nanopartículas no modificó su estructura cristalina según DRX y en FTIR-ATR se aprecia la aparición de grupos -OH & -NH y CH, provenientes de la modificación química durante las etapas de la modificación química superficial.

### Agradecimientos

Al CONACYT por la beca de doctorado otorgada, así como al proyecto CB-285642, por el financiamiento en la realización de este proyecto. A la Facultad de Ciencias Químicas, UANL, al laboratorio de Físicoquímicas de Interfaces y al Laboratorio de Tratamiento de Aguas II por el apoyo en el uso de las instalaciones.

### Referencias

- [1] Gu, Y., Yuan, L., Jia, L., Xue, P., & Yao, H. (2021). Recent developments of a co-immobilized laccase-mediator system: a review. *RSC advances*, 11(47), 29498-29506.
- (2) Primožič, M., Kravanja, G., Knez, Ž., Crnjac, A., & Leitgeb, M. (2020). Immobilized laccase in the form of (magnetic) cross-linked enzyme aggregates for sustainable diclofenac (bio) degradation. *Journal of Cleaner Production*, 275, 124121.
- (3) Patel, S. K., Kalia, V. C., Choi, J. H., Haw, J. R., Kim, I. W., & Lee, J. K. (2014). Immobilization of laccase on SiO<sub>2</sub> nanocarriers improves its stability and reusability. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(5), 639-647.
- (4) Imran, M., Asad, M. J., Hadri, S. H., & Mehmood, S. (2012). Production and industrial applications of laccase enzyme. *Journal of cell and molecular biology*, 10(1), 1.
- (5) Khakshoor, M., Makhdoomi, A., Asoodeh, A., & Hosseindokht, M. R. (2021). Co-immobilized spore laccase/TiO<sub>2</sub> nanoparticles in the alginate beads enhance dye removal by two-step decolorization. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(5), 6099-6110.
- (6) Li, G., Nandgaonkar, A. G., Wang, Q., Zhang, J., Krause, W. E., Wei, Q., & Lucia, L. A. (2017). Laccase-immobilized bacterial cellulose/TiO<sub>2</sub> functionalized composite membranes: Evaluation for photo-and bio-catalytic dye degradation. *Journal of membrane science*, 525, 89-98.

