

96 RA - USO DE QUITOSANO PARA LA INMOVILIZACIÓN DE PROTEASAS

DIMA, J.B^{1,2}; SEQUEIROS, C.²; ZARITZKY, N^{1,3}

1-Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA - CONICET- UNLP).

2-Centro Nacional Patagónico (CONICET-CENPAT).

3-Depto de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería (UNLP). E-mail: zaritkynoemi@gmail.com

Resumen

Los procesos catalizados por enzimas en la industria son cada día más numerosos, ya que presentan una serie de ventajas frente a los catalizadores convencionales no biológicos. Sin embargo, su empleo no se ha generalizado debido a que la mayoría de las enzimas no son estables en las condiciones de trabajo utilizadas. La inmovilización de enzimas en soportes sólidos puede incrementar dicha estabilidad en las condiciones de trabajo (pH, temperatura) permitiendo además, que las enzimas puedan ser reutilizadas. De la variedad de materiales estudiados para inmovilizar enzimas se destaca el quitosano, ya que brinda propiedades físicas y químicas de interacción enzima-soporte para llevar a cabo reacciones biológicas con alto grado de eficiencia, mayor estabilidad térmica y operacional y bajo costo. Además, estos biopolímeros son abundantes, biodegradables y no tóxicos. En Puerto Madryn (Chubut), la industria procesadora de langostinos genera residuos sólidos (exoesqueletos) causando un problema ambiental. De estos residuos ricos en quitina se obtiene el quitosano. Se extrajo quitosano de residuos de crustáceos patagónicos y se utilizó como soporte en la inmovilización de la enzima Philibertaína g, proteasa perteneciente a un extracto crudo aislado de la planta patagónica *Philibertia gilliessi*. Para la obtención de quitosano, la quitina previamente purificada, fue desacetilada con NaOH al 50%. El grado de desacetilación fue de 90,2% (técnica potenciométrica) y el peso molecular viscosimétrico resultó de 2×10^5 Da. La inmovilización de la enzima se realizó por dos técnicas: i) unión covalente (UCov), donde se utilizó glutaraldehído como activante del grupo amino del quitosano; ii) entrapamiento (Entr), en geles de quitosano obtenidos por gelificación iónica utilizando tripolisfosfato de sodio. La actividad enzimática del extracto crudo e inmovilizado se determinó empleando caseína como sustrato y se expresó en Ucas (Unidad caseinolítica). Al extracto crudo (100µl) y al inmovilizado (100mg) se añadió 1,1ml de caseína al 1% en baño termostático a 37°C; la reacción se detuvo a diferentes tiempos, agregando 1,8ml de TCA al 5%. Luego se centrifugó midiendo la absorbancia de los sobrenadantes a 280nm y se evaluó la estabilidad a diferentes pH. La actividad enzimática a pH=8 fue de 0,077Ucas (enzima libre en extracto crudo), 0,043Ucas (UCov) y 0,049Ucas (Entr). El porcentaje de inmovilización fue mayor para la enzima entrapada. Se observó mayor estabilidad al pH para la enzima inmovilizada Ucov. Las enzimas proteolíticas poseen un amplio campo de aplicación, la búsqueda de estrategias para optimizar su desempeño catalítico resulta de gran importancia para su uso industrial.