Proteínas de capa-S como bloques de construcción: un abordaje desde la nanoarquitectónica en el diseño de nuevos bionanocatalizadores

S. Huggias*[1], Y.E. Carballo[1], J.F. Ruggera[1], M.A. Serradell[2], M.L. Casella[1], P.A. Bolla[1]

1-Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias Aplicadas "Dr. Jorge J. Ronco" - (CINDECA: CONICET CCT La Plata, UNLP, CICPBA), Calle 47 N° 257, La Plata, Argentina

2-Cátedra de Microbiología, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata (UNLP) Calle 47 y 115, La Plata, Argentina.

*shuggias@quimica.unlp.edu.ar

Palabras claves: PROTEINAS DE CAPA-S, NANOPARTICULAS METÁLICAS, CATALISIS, *p*-NITROFENOL, NANOARQUITECTÓNICA

RESUMEN

En este trabajo se sistematizarán los más recientes avances en el desarrollo de una vía sencilla y ecocompatible para la obtención de nanopartículas metálicas soportadas sobre proteínas de capa-S con elevada y versátil actividad catalítica. En este sentido, la utilización tecnológica de estructuras con capacidad de autoensamblarse espontáneamente en agregados supramoleculares reproducibles es una herramienta clave para construir unidades funcionales desde un enfoque nanoarquitectónico. Aprovechando las propiedades de las proteínas de capa-S bacterianas se logró diseñar sistemas nanoestructurados conteniendo nanopartículas de plata y platino soportadas con gran estabilidad coloidal. Estos bionanocatalizadores resultaron ser catalíticamente activos frente a reacciones de hidrogenación. Los bionanocatalizadores desarrollados presentaron un muy buen desempeño y una exitosa reutilización en la reducción de colorantes aromáticos, azoicos y nitroarenos, demostrando el alto grado de funcionalidad de los sistemas diseñados.

Introducción

El diseño y la manipulación de los nanomateriales está en constante expansión debido a la diversidad de aplicación que poseen, lo cual derivó en el desarrollo de gran variedad de vías sintéticas [1]. Ante esta expansión emerge el concepto de nanoarquitectónica, definido como el diseño de nanosistemas funcionales partiendo de bloques de construcción que permitan el control morfológico y guíen la síntesis. Dentro de este abordaje, la nanoarquitectónica de interfaces explota sistemas nanoestructurados cuya funcionalidad está confinada en la superficie y en el

contacto de la misma con el entorno [2]. En este sentido, las proteínas de capa-S (SLP) se presentan como una herramienta valiosa en la construcción de nanosistemas debido a sus características fisicoquímicas y estructurales únicas. Las SLP forman la parte más externa de algunas bacterias y *archaeas*, suelen estar formadas por subunidades proteicas con capacidad de autoensamblarse en suspensión o sobre superficies, formando arreglos 2D que exhiben poros nanométricos de tamaño y forma idénticos [3]. Las características estructurales combinadas con la afinidad fisicoquímica por diferentes metales promovieron la utilización de las SLP como *biotemplates* en la síntesis de arreglos periódicos de nanopartículas metálicas [4]. El interés por optimizar la síntesis de nanopartículas metálicas radica en la excelente aplicación catalítica, particularmente, en reacciones de reducción de compuestos orgánicos relevantes ambiental e industrialmente, como colorantes y nitroarenos comúnmente presentes en aguas residuales. Este trabajo se propone la discusión y sistematización de la síntesis de nanopartículas metálicas, su caracterización y su utilización como catalizadores.

Metodología Experimental

Se extrajo y aisló SLP de la cepa *Lentilactobacillus kefiri* CIDCA 8348 utilizado cloruro de guanidinio como agente caotrópico según Bolla y col. [4]. Posteriormente, la suspensión de proteínas de capa-S purificadas (S_8) se contactó con soluciones de los precursores metálicos, $AgNO_3$ o $(NH_4)_2PtCl_4$ por 24 h. a 25°C. Los sistemas fueron reducidos en corriente de H_2 a presión atmosférica y 25°C, obteniéndose bionanocatalizadores constituidos por nanopartículas de plata o platino soportadas sobre proteínas de capa-S (Ag/S_8, Pt/S_8). Los bionanocatalizadores se purificaron mediante tres ciclos de centrifugación-resuspensión con agua *milli*-Q. Tanto las proteínas de capa-S como los sistemas conteniendo nanopartículas metálicas fueron caracterizados empleando microscopía de transmisión electrónica (FEI Talos 200 y Philips CM200-UT) con el propósito de conocer su morfología y dimensión.

Se evaluó la performance catalítica de los bionanocatalizadores Ag/S_8 y Pt/S_8 frente a la reacción de reducción de distintos compuestos coloreados, *p*-nitrofenol (*p*-NF), azul de metileno (AM) y rojo Congo (RC). La cinética de reducción de estos compuestos se siguió mediante espectrofotometría UV-visible (CINTRA 20 GBC Scientific Equipment) determinando la absorbancia en sus máximos de absorción (400 nm para *p*-NF, 665 nm para AM y 475 nm para RC). En una cubeta de cuarzo se realizó una mezcla reactiva conteniendo 0,15 mL de AM o RC (200 mg/L), $NaBH_4$ (0,01M) como agente reductor y 0,05 mL del catalizador, llevando a un volumen final (V_f) de 1,5 mL. En el caso del *p*-NF se colocan 0,5 mL del reactivo ($5x10^{-4}$M) junto con 0,7 mL de $NaBH_4$ (0,02M) y 0,3 mL del catalizador, con V_f de 3,00 mL, a partir de los

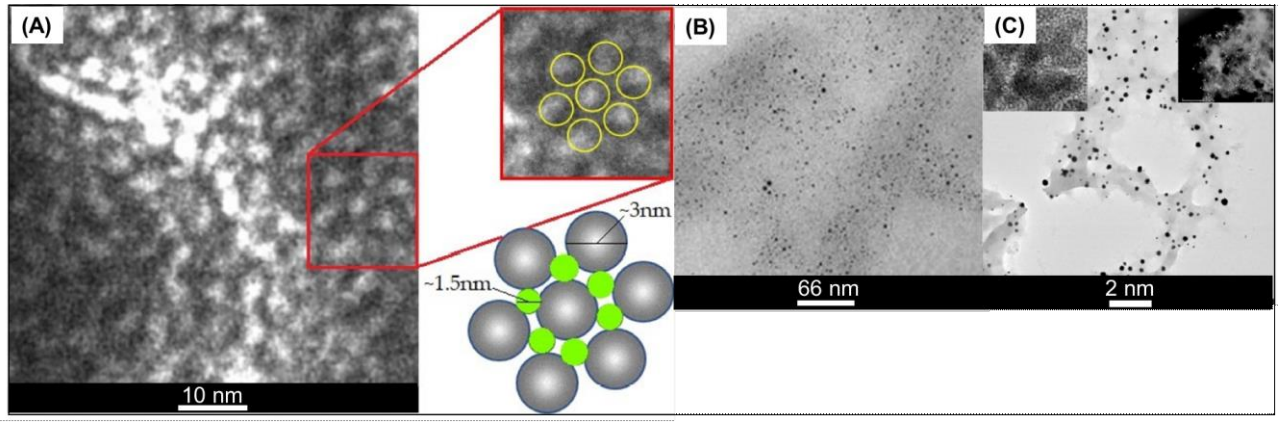
resultados obtenidos se calcula la conversión (X%) según $X\%=(A_0-A_t)*100/A_0$; donde A_0 y A_t son las absorbancias a cero y a tiempo t (min), respectivamente. Considerando que la cinética de reacción es de *pseudo* primer orden respecto a la concentración de *p*-NF [5], la constante de velocidad aparente (K_{app}) se calcula a partir de la pendiente de la recta $\ln(A_t/A_0)$ vs t.

Resultados y discusión

Caracterización de las proteínas de capa-S y los bionanocatalizadores

La figura 1(A) muestra el arreglo regular 2D que presenta S_8, donde se observa una organización hexagonal de sus subunidades (p6), de tamaño aproximado 3 nm, mientras que los poros tienen alrededor de 1,5 nm. La regularidad espacial que presenta esta matriz biológica las posiciona como un soporte ideal capaz de dirigir la síntesis de nanopartículas metálicas confinada en los poros adoptando su morfología y dimensión [3].

Figura 1: Imágenes TEM de S8 (A), Ag/S_8 (B) y Pt/S_8 (C).



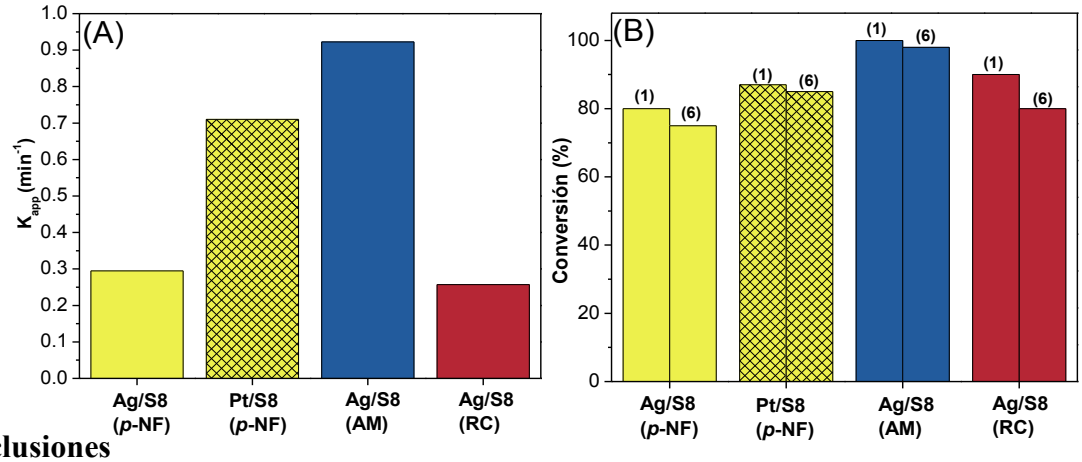
Por otro lado, en la figura 1 (B y C) se observan las nanopartículas metálicas obtenidas. Como puede apreciarse, presentan una distribución homogénea sobre el soporte con tamaño promedio de partícula de 1,9 y 3,62 nm para Ag/S_8 y Pt/S_8 respectivamente. El contenido metálico de los bionanocatalizadores determinado por absorción atómica fue similar en ambos casos, 0,28% para Ag/S_8 y 0,223 % para Pt/S_8.

Estudio catalítico de Ag/S_8 y Pt/S_8: reducción de colorantes AM, RC y p-NF

En términos generales, tanto los bionanocatalizadores de plata como de platino presentaron un gran desempeño catalítico frente a las reacciones de reducción ensayadas. Respecto a la reducción de *p*-NF los catalizadores mostraron diferentes actividades, mientras Pt/S_8 alcanzó una K_{app} de 0,71 min^{-1}, la K_{app} de Ag/S_8 fue mucho menor (0,295 min^{-1}). La evaluación de la reducción de AM y RC se presenta únicamente para Ag/S_8. En la figura 2A se puede apreciar el desempeño de Ag/S_8 en la reducción de las tres moléculas, la K_{app} alcanzada para RC resultó

relativamente similar a *p*-NF (0,257 min^{-1}), sin embargo para la reducción de AM fue ampliamente superior alcanzando una velocidad inicial de 0,923 min^{-1}. No obstante la conversión y la capacidad de reutilización de los sistemas no presentó grandes diferencias como puede observarse en la figura 2B. El bionanocatalizador Ag/S_8 prácticamente no modificó su desempeño a lo largo de 6 ciclos de reducción de AM, mientras que frente a la hidrogenación de RC presentó una caída en la conversión de 10 puntos porcentuales.

Figura 2: Constante de velocidad aparente (A) y conversión frente a la reutilización (B) de Ag/S_8 y Pt/S_8 en las hidrogenaciones estudiadas, donde (1) indica el 1° uso y (6) el sexto uso.



Conclusiones

Se lograron obtener nanopartículas de plata y platino soportadas sobre SLP, con estabilidad coloidal elevada y una versátil aplicación catalítica en reacciones de reducción de distintas moléculas orgánicas. Estos resultados están vinculados con el control dirigido de la nucleación y reducción metálica logrado gracias a la orientación regular de grupos funcionales con afinidad fisicoquímica por los metales y poros que poseen las proteínas de capa-S. Gracias a estas particulares propiedades que posee la red proteica puede utilizarse con éxito como un bloque de construcción molecular en la obtención y estabilización de arreglos metálicos nanoestructurados. El enfoque utilizado para la síntesis es innovador, ecológicamente compatible y conduce a la obtención de sistemas funcionales con excelente proyección en el horizonte catalítico.

Referencias

[1] M. Roukes; Plenty of Room, Indeed. Scientific American, 285 (2001) 48–57
[2] K. Ariga & M. Aono; Jpn. J. Appl. Phys. 55 (2016) 1102A6
[3] U.B. Sleytr & P. Messner; Rev. Microbiol. 37 (1983) 311-39
[4] P. A. Bolla, S. Huggias, M.A. Serradell, J. F. Ruggera & M. L. Casella; Nanomaterials 10 (2020) 2322
[5] K. Esumi, R. Isono & T. Yoshimura; Langmuir 20 (2004) 237-243