

Avances en la inmovilización de enzimas Sobre superficies poliméricas y sus diferentes aplicaciones en la industria

Importance of enzymes immobilized on polymeric surfaces and their different applications in industry

Ricardo Gallardo Espinoza ¹, Rosa Idalia Narro Céspedes ¹, María Cristina Ibarra Alonso ¹

Adalí Oliva Castañeda Facio ¹, Anna Iliná^a, Luis Fernando Mora Cortés ²

¹ Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Químicas, Ing. J. Cárdenas Valdez S/N, República, 25280, Saltillo, Coahuila, México

² Centro de investigación en química aplicada (CIQA) Enrique Reyna H. No. 140, San José de los Cerritos, 25294, Saltillo, Coahuila, México.

Correspondencia para autor: Narro Céspedes

Universidad Autónoma de Coahuila

Correo electrónico: rinarro@uadec.edu.mx

(044) 844 880 97 97

Resumen

Las enzimas se consideran proteínas complejas que están formadas por aminoácidos específicos. Son de gran importancia en múltiples reacciones ya que actúan como catalizadores. Presentan ciertas ventajas como acelerar y regular la velocidad de reacción con alta especificidad en reacción que catalizan. Además de ser utilizadas por los organismos vivos pueden ser empleadas para un sin fin de

aplicaciones de importancia industrial, médica y de biorremediación entre otras. En la presente revisión se abordan los principales avances en la inmovilización de enzimas sobre materiales poliméricos, así como la importancia de su reutilización en diversas aplicaciones en la industria. Esta tecnología está generando grandes oportunidades dentro de diferentes campos de la ciencia principalmente alimentarias, fármacos, y ciencia de los materiales como la utilización de bioproductos de interés científico y económico dando como resultado la mejora en los procesos de producción. Es importante resaltar que este trabajo es de gran relevancia en el área ambiental, ya que visualiza materiales poliméricos de desecho que generan contaminación pero que pueden recuperarse y reutilizarse como soportes poliméricos en la inmovilización de enzimas, dándoles un valor agregado, y así ayudar con uno de los mayores problemas que afectan a la sociedad.

Palabras clave: inmovilización, enzimas, polímeros.

Abstract

Enzymes are considered complex proteins that are made up of specific amino acids. They are of great importance in multiple reactions since they act as catalysts. They have certain advantages, such as accelerating and regulating the reaction rate; the latter property is not present in chemical catalysts, which are also significant pollutants. Enzymes are particular since they act as a key that recognizes the substrate. Therefore, they can be used for many industrial, medical, and bioremediation applications besides being living organisms. They can be used for many industrial, medical, and bioremediation applications. The present review addresses the significant advances in immobilizing enzymes on polymeric materials and the importance of their reuse for various applications industry. This technology generates significant opportunities within different areas, mainly food, pharmaceuticals, and bioproducts, with a scientific and economic interest, resulting

in improved production processes. On the other hand, this work is essential since it visualizes polymeric waste materials that generate contamination but can be recovered and reused as polymeric supports immobilizing enzymes, giving them added value, thus helping with the problems of contamination in society.

Keywords: immobilization, enzyme, polymers

Introducción

En los últimos años la inmovilización de enzimas ha desarrollado novedosas investigaciones orientadas a diversas áreas de la ciencia como la alimentaria, la farmacéutica, textil y biorremediación entre otras. La utilización de enzimas como método biológico, permite una mejora significativa en la sustentabilidad, siendo su empleo ecológico, ya que utiliza principios de la química verde en su metodología. Sin embargo, es importante preparar la superficie de los materiales para inmovilizar las enzimas sobre estos. Para ello existen diversas técnicas que modifican las superficies con el fin que sean compatibles con las enzimas y también, se controlen a la par propiedades físicas, químicas y topográficas. Por otro lado, la inmovilización de enzimas cada día ha expandido más sus horizontes de aplicación debido a su versatilidad, bajo costo y que es ambientalmente benigna. El objetivo de esta revisión es difundir el conocimiento sobre las enzimas dando una visión general sobre ellas, su importancia al ser inmovilizadas sobre superficies no biodegradables como los polímeros, así como llevar al lector a visualizar las formas de utilización más novedosas en diversas áreas de la ciencia dando un valor agregado a este tipo de materiales que causan contaminación, pero pueden ser reutilizados generando oportunidades para beneficio social.

Las enzimas y su mecanismo de acción

Las enzimas se conocen como biocatalizadores de origen biológico procedentes de plantas, hongos y bacterias; son proteínas de elevado peso molecular y altamente específicas. El termino catalizar se define como la capacidad que tienen las enzimas para incrementar la velocidad con que se lleva a cabo una reacción. De algún modo esto se debe a que la formación de productos finales en una reacción requiere generalmente un aporte de energía que las enzimas reducen (Cardona Serrate, 2020). Sin embargo, para llevar a cabo procesos enzimáticos, se deben considerar aspectos importantes como el mantenimiento, la estabilidad estructural, los procesos para incrementar la eficiencia en su producción y facilitar su recuperación al final de la reacción. Actualmente, se ha logrado la inmovilización, purificación, y uso exitoso de enzimas en variados procesos biotecnológicos generando un gran interés dentro de diversos giros de la industria en general (Arana-Peña y col., 2021).

Los procesos catalizados por enzimas en la industria son de suma importancia, por lo que cada día son numerosos comparado con los catalizadores convencionales no biológicos. Además de la reducción del tiempo y energía utilizada en sus reacciones, presentan otras ventajas como la elevada especificidad, trabajan en condiciones suaves, son fácilmente accesibles y no alteran el medio ambiente, ya que utilizan los principios de la química verde (Cebrián Cabo, 2020)

Además, algunas enzimas pueden lograr modificar la forma de sus centros activos para adaptarse mejor al sustrato. En la Figura 1 se observa el modelamiento enzimático, donde la enzima se fija a la superficie del sustrato por medio de enlaces débiles, posteriormente se forma el complejo enzima-sustrato. En esta etapa se generan tensiones que vuelven frágiles los enlaces del sustrato, por lo que al llegar al estado de transición del complejo enzima-sustrato, se requiere mucho menos

energía que para llegar al estado de transición del sustrato solo, este proceso finaliza con la liberación de la enzima intacta al igual que el producto. Otra ventaja importante de las enzimas es que el proceso se realiza en un menor tiempo (Castañeda, 2019).

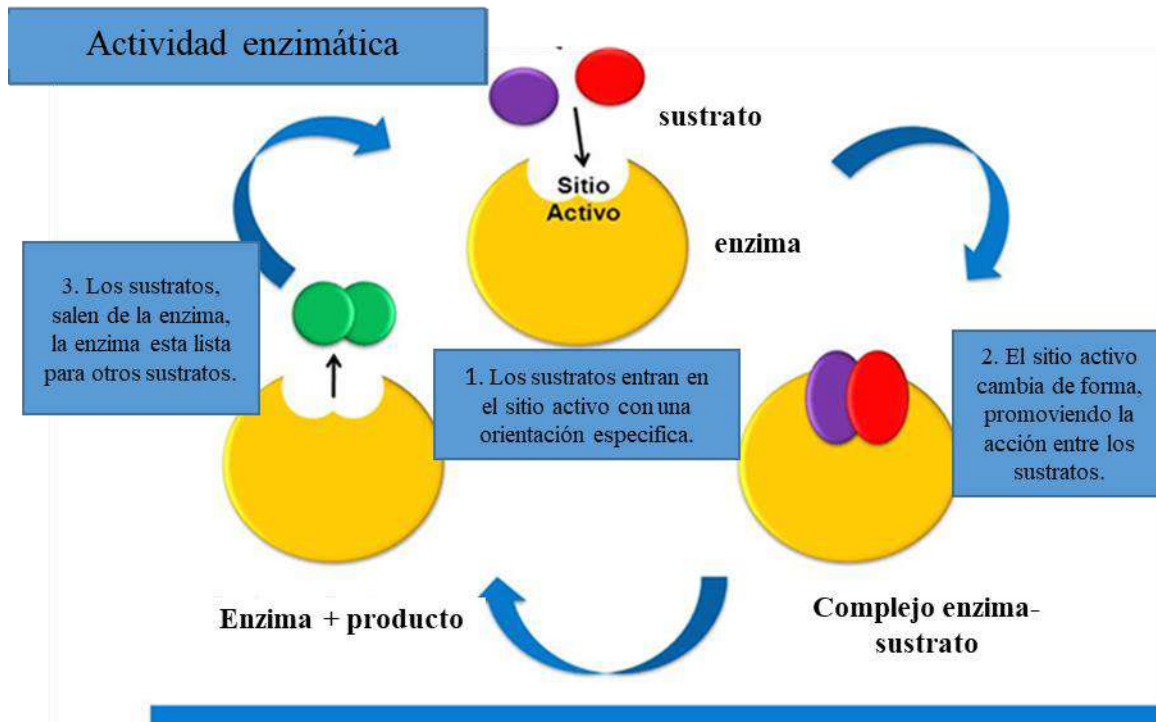


Figura 1. Actividad enzimática, unión enzima sustrato.

Clasificación de enzimas y sus aplicaciones

Actualmente existe una clasificación internacional de los tipos de enzimas la cual se adapta a su nomenclatura. El nombre incluye la reacción que cataliza y el sustrato sobre el cual trabaja (Madhumita & Prabhakar, s. f.). A continuación, en la Tabla 1 se presentan los 6 principales grupos de enzimas que existen.

Las enzimas son conocidas por ser excelentes catalizadores en muchas áreas de la industria.

Por ejemplo, en síntesis, de biocombustible, síntesis de fármacos, química de alimentos, biosensores, biorremediación (Elnashar, 2010). Es importante mencionar que, con el fin de acelerar el proceso de formación de las enzimas, actualmente los microorganismos utilizados son modificados genéticamente para beneficiarse de sus propiedades, esto debido a su rápido crecimiento, facilidad de manipulación genética y por el ahorro de espacio que supone su crecimiento y desarrollo (Coronado Arrázola, 2020). En la Tabla 2 se presenta un resumen de las principales enzimas, la fuente más común para fabricarlas, la acción enzimática que presentan, así como su aplicación tecnológica en las distintas industrias.

Tabla 1. Clasificación de las enzimas en base a la reacción específica que catalizan.

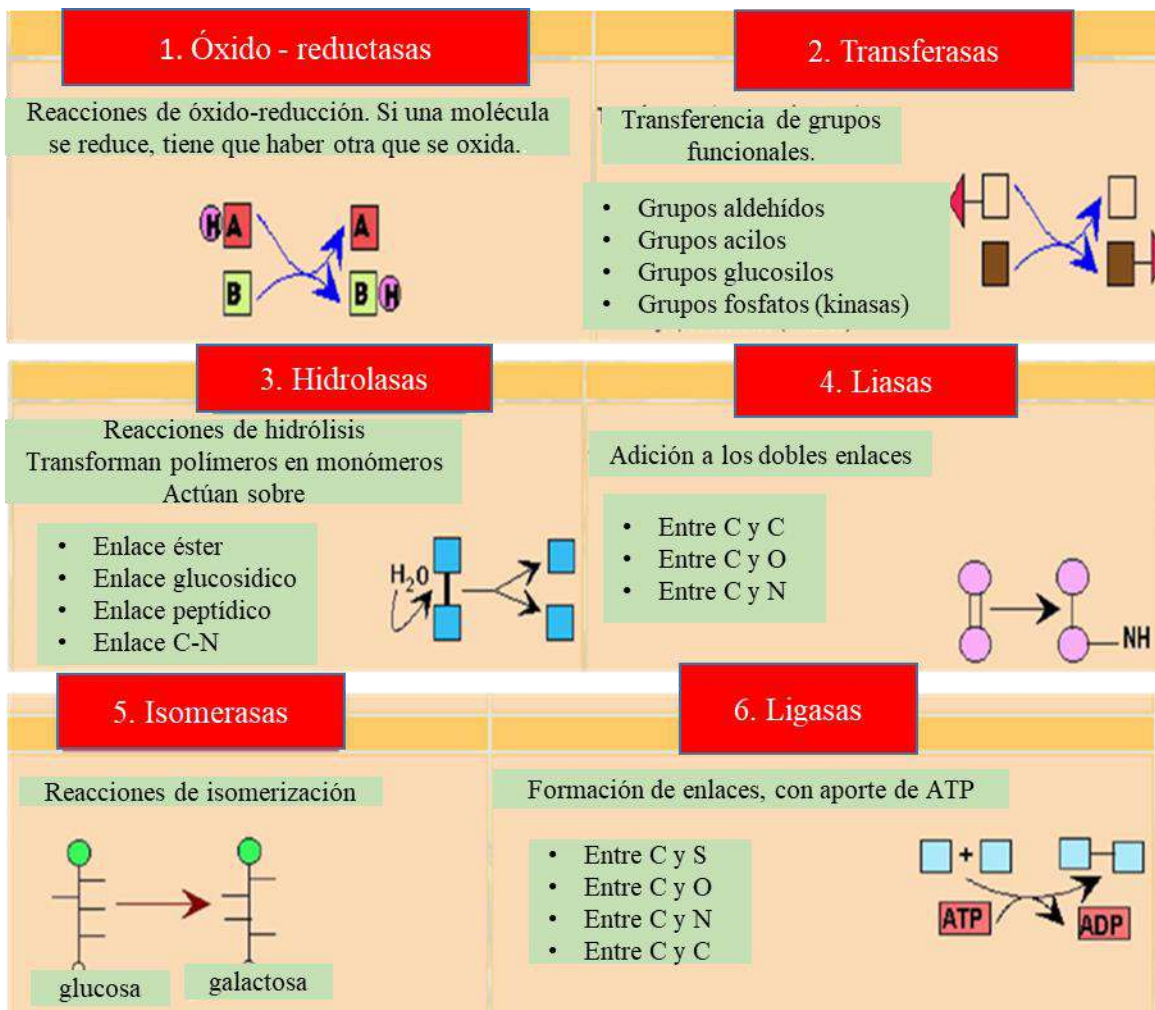


Tabla 2. Enzimas más utilizadas en la industria, la fuente de extracción, la acción y la aplicación tecnológica. Elaboración propia (Adaptada de (Lagos Susaeta, 2016).

Enzima	Fuente	Acción enzimática	Aplicación tecnológica
α-Acetolactato descarboxilasa	<i>B. subtilis</i>	Conversión de acetolactato a acetoína.	Reducción tiempo maduración del vino.

Amiloglucosidasa	<i>A. niger, Rhizopus spp.</i>	Hidrólisis de dextrina glucosa.	Producción de jarabes fructosados y cerveza.
Bromelina, ficina y papaína	<i>Piña, látex de higo y de papaya inmadura.</i>	Hidrólisis de proteínas del tejido conectivo y muscular.	Tenderización carne.
Catalasa	<i>A. niger, M. luteus</i>	Conversión del peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno	Junto glucosa oxidasa, remueve el oxígeno.
Celulasa	<i>A. niger Trichoderma spp.</i>	Hidrólisis de celulosa.	Ablandamiento de la fruta en jugos.
Dismutasa lactoperoxidasa	<i>Saliva y leche de mamíferos</i>	Oxida compuestos en presencia de agua y peróxido de hidrógeno.	Combinada con tiocianato oxidado y peróxido de hidrógeno da origen a compuestos antibacterianos.
Enzima	Fuente	Acción enzimática	Aplicación tecnológica
β-Glucanasa	<i>Aspergillus spp., Bacillus subtilis</i>	Hidrólisis de β -glucanos.	Evita la turbidez en la cerveza.
Glucosa isomerasa	<i>A. missouriensis, B. coagulans, S. lividans, S. rubiginosus</i>	Conversión de glucosa a fructosa.	Producción de jarabes partir de almidón.
Glucosa oxidasa	<i>A. Niger, P. chrysogenum</i>	Oxidación de glucosa a	Evita el pardeamiento en clara del huevo.

		ácido glucónico.	
Hemicelulasa y xilanasa	<i>Aspergillus spp., subtilis, T. reesei</i>	Hidrólisis de hemicelulosa	Mejora la textura del pan
Lacasa	<i>T. versicolor y hirsuta</i>	Reducción del oxígeno a agua con la oxidación de sustrato como diaminas aromáticas y polifenoles.	Gelatiniza la pectina de la remolacha en la fabricación de azúcar.
Lipasa y esterasa	<i>Aspergillus spp., B. subtilis, Rhizopus spp.</i>	Hidrólisis de triacilgliceroles en ácidos grasos y glicero.	Sintetiza ésteres catalizan procesos biológicos.
Lipoxigenasa	<i>Bacillus spp., Klebsiella spp.</i>	Oxidación de ácidos grasos insaturados.	
Lisozima	<i>Huevo blanco</i>	Hidrólisis de la pared celular bacteriana.	Bacteriostático defensa Bacterial.
Pectinesterasa	<i>Aspergillus spp.</i>	Remoción de grupos metilo de las unidades de galactona en la pectina.	Despectinización separar y descomponer grupos pectinas.
Pentosanasa	<i>H. insolens, T. reesei</i>	Hidrólisis de pentosano.	Mejora la calidad y textura de la masa de panificación.
Pululanasa	<i>Bacillus spp., Klebsiella spp.</i>	Hidrólisis de enlaces $\alpha(1-6)$ del almidón.	Mejora la eficiencia de la sacarificación del almidón.

Las enzimas tienen una gran importancia dentro de los procesos biotecnológicos, por ello se utilizan en muchas aplicaciones y son usadas en el ámbito industrial, ofreciendo la ventaja de ejercer un control más estricto en la calidad de los productos (Ahlawat y col., 2018). En la Figura 2 se muestran algunas de las principales aplicaciones industriales de las enzimas.

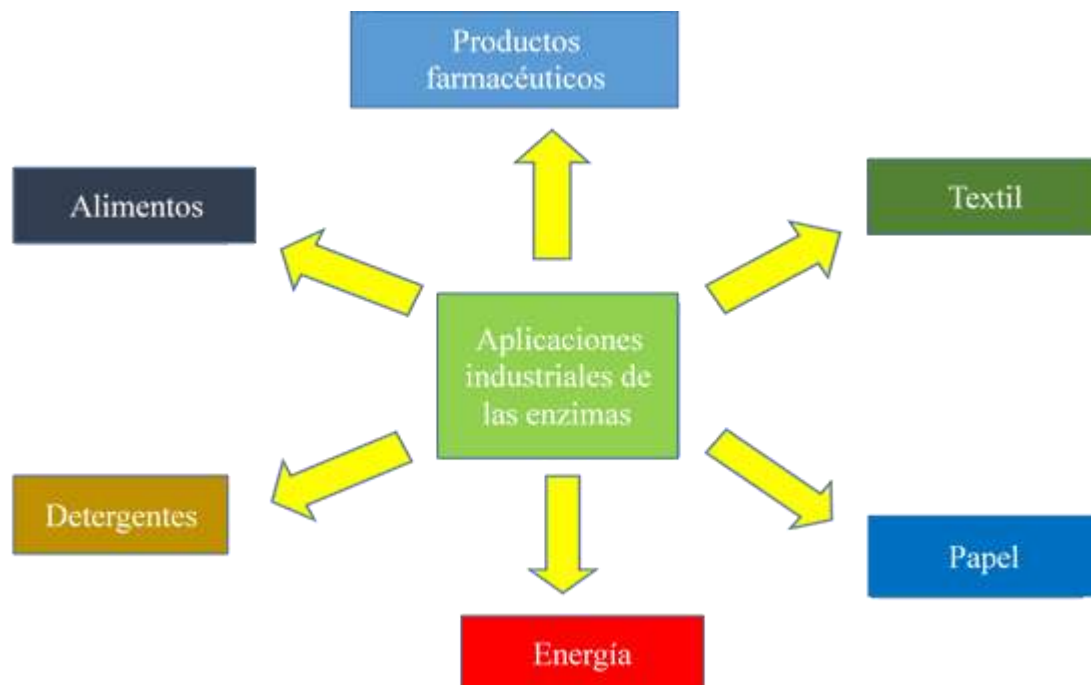


Figura 2. Principales aplicaciones de las enzimas en las diferentes áreas industriales. Elaboración propia.

La mayoría de los procesos biotecnológicos tradicionales como la obtención de yogurt, la producción de cerveza o la fermentación de la uva para fabricar vino, se realizan con el empleo de enzimas (Ortega –Ante, 2020). La mayor parte de las enzimas industriales se obtienen de microorganismos como hongos y bacterias,

entre ellas: proteasas de bacilos, amilogucosidasa, amilasa de bacilo, glucosa, isomerasa, pectinasa, proteasa fúngica (Salazar Carranza y col., 2020). Por otra parte, las enzimas tienen numerosas aplicaciones en la industria química, alimentaria, farmacéutica, textil y ambiental entre otras. En nuestra vida cotidiana están presentes las enzimas, de gran utilidad son las proteasas, amilasas o lipasas, que forman parte de los detergentes (Jasso & Gabriel, 2018).

Inmovilización de enzimas

Una enzima inmovilizada se puede definir como aquella enzima que se encuentra confinada en un espacio definido, en el que se retiene su actividad catalítica y puede ser reutilizada continuamente. En los últimos años esta técnica ha resultado de gran interés para el área de la biotecnología y ha experimentado grandes avances (Pimentel, 2021).

La inmovilización de enzimas es una tecnología que genera un mejor y mayor uso de la enzima. Por lo tanto, se ha logrado que muchos procesos industriales y biocatalizados sean rentables económicamente, ya que genera productos con mejores características y menor costo, optimizando el rendimiento operativo en procesos industriales, debido a sus excelentes propiedades catalíticas tales como (actividad, selectividad y especificidad) por lo que son capaces de catalizar los procesos químicos más complejos (Evangelista Martínez y col., 2017).

Métodos de inmovilización de enzimas

En la naturaleza existen diferentes tipos de enzimas, con estructuras y funciones diferentes. Por tal motivo, seleccionar la forma más adecuada de inmovilizar una enzima es fundamental para asegurar que mediante la inmovilización se continúe manteniendo su efectividad. Las enzimas pueden ser inmovilizadas por dos métodos: retención física o por unión química (Sánchez-Ramírez y col., 2014). Como se observa en la Figura 3 en el apartado A esta la unión química, la cual

puede ser dividida en unión covalente, adsorción iónica y entrecruzamiento o reticulado. En el apartado B se encuentra la unión física, con las dos formas de inmovilización diferentes: atrapamiento y encapsulación, posteriormente se describen cada una de las técnicas utilizadas en la inmovilización.

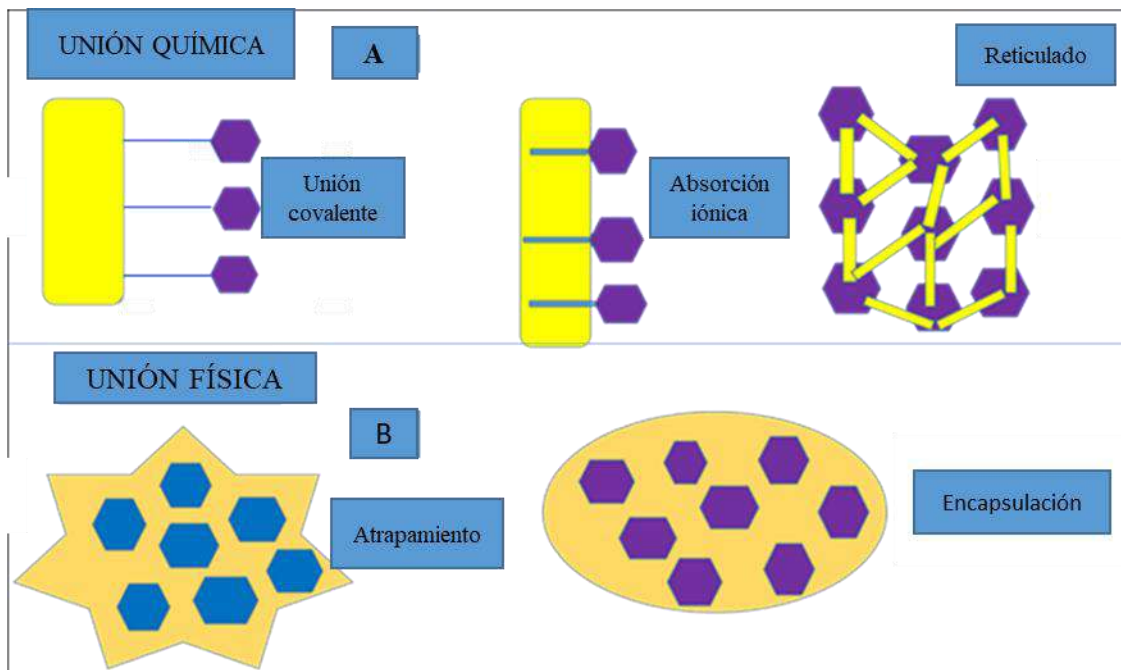


Figura 3. Formas principales de inmovilización de las enzimas según el tipo de unión, elaboración propia, adaptación de proceso de referencia (Sánchez-Ramírez y col., 2014).

La inmovilización por adsorción en un material resulta de las interacciones entre las enzimas y la superficie donde es confinado. La adsorción se puede llevar a cabo gracias a las interacciones de puentes de hidrogeno y Van der Waals entre otras, aquí la enzima adsorbida no está fija en un lugar específico de la superficie. En la inmovilización por adsorción, las enzimas están protegidas ante la degradación, la proteólisis y la interacción con interfaces hidrófobas. Sin embargo, también es una ventaja porque con el pH adecuado se puede recuperar la enzima para almacenarla

nuevamente si es necesario. En este método influyen cuatro principales factores (Casique-Arroyo y col., 2014):

- pH del medio: responsable del grado de acidez o alcalinidad de la sustancia o de la solución y de la naturaleza de las cargas que presenta la superficie de la proteína y del sólido (Maya Toro y col., 2018).
- Fuerza iónica: al aumentarla se produce la desorción de la enzima, ya que los iones inorgánicos se unen con más fuerza al soporte que la proteína (Godoy y col., 2018)
- El diámetro de poro: debe ser aproximadamente dos veces el tamaño del eje mayor de la enzima (Martínez-Damián y col., 2013).
- La presencia de iones: actúan como cofactores de la enzima, ya que pueden incrementar la carga enzimática (Jaimes-Santoyo y col., 2014).

Por otra parte, la inmovilización covalente, se basa en el entrecruzamiento de la enzima y el material del soporte generando un enlace fuerte y estable. Este enlace es constituido en el grupo funcional de la matriz del soporte y la superficie de la enzima que contiene residuos de aminoácidos. La unión covalente es formada entre los grupos funcionales pertenecientes a los residuos de aminoácidos en la superficie de la enzima. Los materiales utilizados en este método incluyen poliacrilamida, agarosa y silica (Cacho Salán, 2020).

Otra técnica utilizada es el entrecruzamiento, el cual ha sido empleado para muchos tipos de enzimas, donde la enzima es el propio soporte (Corell Escuin y col., 2017). En esta técnica, las enzimas se inmovilizan unas con otras o mediante un agente de unión que ayuda a generar enlaces entre ellas. La ventaja de este método es la sencillez de su elaboración, así como el tipo de unión es covalente, tanto entre enzimas, como

enzimas y agente de unión. Sin embargo, el principal problema es su susceptibilidad a cambios de pH y temperatura del medio, ya que no son capaces de soportarlas en un parámetro dado. Los enlaces resultantes de la inmovilización son de carácter intermolecular irreversibles, factor que es considerado muy limitante para el uso de enzimas (Fajardo Ochoa y col., 2011).

Otro método utilizado en la técnica física es la micro-encapsulación, esta técnica consiste en rodear enzimas con membranas semipermeables, que den acceso del producto hacia el interior, pero no el de las enzimas al exterior (Castromonte y col., 2020). Estas membranas pueden ser permanentes, originadas por polimerización interfacial, o no permanentes generadas por surfactantes, también conocidas como “micelas reversas”. El método se puede llevar a cabo mediante dos tipos de soportes, uno es mediante soportes porosos que permiten el mayor paso de sustrato, pero con mayor pérdida de la enzima y el otro es con una microemulsión, que no dejan tanto el paso del sustrato, pero retienen más la enzima (Kuiper y col., 2008). Ambos métodos se pueden combinar para fortalecer las ventajas del otro y tener más acciones de actuación en las reacciones.

Materiales utilizados como soportes en la inmovilización

Así como existen diferentes técnicas para lograr la inmovilización de enzimas, también se pueden encontrar nuevos métodos, y soportes más avanzados y modernos. La mayoría de estos están basados en la utilización de nanoestructuras, ya que son un nuevo campo de investigación de los materiales para la inmovilización de enzimas (Cabral y col., 2018).

Las características de las matrices o soportes son de gran importancia en la determinación de la eficiencia del sistema de inmovilización de enzimas. Los soportes pueden clasificarse en base a su forma, tamaños, propiedades físicas y

químicas, además de que pueden ser inorgánicos, orgánicos y polímeros sintéticos (Ariza León y col., 2013).

Soportes inorgánicos: este grupo se subdivide en los que pueden ser naturales (arcillas como la bentonita, zeolitas, piedra pómez, carbón, sílice) o materiales manufacturados (óxidos de metales y vidrio de tamaño de poro controlado, vidrio no poroso, alúmina, cerámicas, gel de sílice) (Rangel Ortiz, 2019).

Entre los soportes naturales más utilizados, tenemos las partículas de silicio o sílice que han sido ampliamente estudiadas para la inmovilización de enzimas (Beltrán & Castrillón, 2015) unieron la papaína a una matriz de aluminosilicatos nanoestructurados mediante la unión de enlaces covalentes, desarrollando la inmovilización de proteasas en nanopartículas.

Después del proceso de inmovilización, determinaron la actividad enzimática para estimular su uso en la hidrólisis de ingredientes proteicos, los cuales son utilizados en la elaboración de alimentos. Encontraron que este tipo de soportes presentan gran resistencia mecánica, estabilidad química, son biocompatibles con varias enzimas y no presentan toxicidad, ya que no interactúan con los productos. Las nanopartículas de sílice son aquellas que comprenden entre 1 y 100 nm de diámetro. La inmovilización que se realiza más a menudo con ellas es mediante enlaces covalentes, aunque también son utilizados la adsorción y la reticulación, pero en menor proporción. En los últimos años, este tipo nanopartículas inorgánicas han sido estudiadas, con el objeto de ser utilizadas en tratamientos terapéuticos en los campos biomédicos, debido principalmente propiedades físicas, químicas y biológicas, así como su fácil funcionalización superficial y su excelente biocompatibilidad (Vergara-Duque y col., 2020).

En otro estudio realizado por Quilis Romero (2019) utilizaron como soporte para la inmovilización de la enzima secretada por la bacteria *Bacillus licheniformes*, zeolitas deslaminadas del tipo ITQ-2 con diferente reacción Si/Al. Así también realizaron la caracterización completa de los complejos formados. Para comprobar la eficacia de los biocatalizadores sintetizados utilizados como soporte, estudiaron la reacción de

hidrólisis del enlace peptídico de las proteínas presentes en la harina de cáñamo, catalizada por la enzima proteasa.

Liu y col. (2019) en calidad de soporte consideraron un material inorgánico como la zeolita. Ellos utilizaron un derivado enzimático basado en una enzima hidrolítica, como la naringinasa, inmovilizándola sobre zeolitas laminares por medio de enlaces covalentes. Este estudio se realizó, con el objetivo de observar la capacidad del incremento en la estabilidad térmica, estabilidad a diferentes pH, actividad catalítica y afinidad por el sustrato, con respecto de la enzima libre sin inmovilizar. Además, cuantificaron la reutilización del derivado enzimático sin disminución de la actividad catalítica.

Entre las nanopartículas manufacturadas más utilizadas, tenemos a las nanopartículas de oro y nanopartículas magnéticas. Las nanopartículas de oro, es un material que ha empezado a ser utilizado en los últimos años, su uso es gracias a que posee características como, facilidad de preparación del material, capacidad de ajuste del tamaño del poro, alta superficie específica y sobre todo su compatibilidad con las enzimas. Además, debido a su rápida unión y durabilidad, la inmovilización se realiza mediante atrapamiento y reticulación. Este material se caracteriza por poseer un óxido estable, lo que hace que sea más manejable en condiciones atmosféricas y lo convierte en un material mayormente utilizado (Castellanos Perilla y col., 2018). Además, se ha trabajado con electrodos modificados con nanopartículas de oro y su aplicación en biosensores electroquímicos, empleando la enzima Peroxidasa obtenida del rábano, como sistema de bioreconocimiento biológico y detector de peróxido de hidrogeno (Espinoza Montero & Fernández Martínez, 2020)

Por otro lado, las nanopartículas magnéticas son consideradas soportes inorgánicos. La inmovilización sobre nanopartículas magnéticas es una nueva técnica, la cual ha despertado el interés gracias a sus propiedades como material del soporte. Los materiales magnéticos poseen propiedades físicas, químicas y estructurales que favorecen la recuperación. Esto facilita retirar la enzima una vez

que esta ejerce su acción. Además, las nanopartículas magnéticas se les puede inducir con un campo magnético externo, creado por un dipolo o momento magnético para recuperarlas (Peralta, 2021). Lo que facilita la reutilización del material, la prolongación de ciclos de aplicaciones sucesivas y el tiempo de vida útil. Por otro lado, se ha estudiado, la inmovilización de las enzimas xilanas y celulasa sobre un soporte magnético de quitosano, para la obtención de oligosacáridos a partir de un desecho agroindustrial. Mediante un anclaje de las enzimas al soporte por el método de coprecipitación química, generando resultados tras la inmovilización como estabilidad térmica y resistencia a valores de pH ácido, así como mayor estabilidad en la actividad catalítica (Hernández, 2017).

También existen otros tipos de soporte inorgánicos tanto naturales y sintéticos. Entre los soportes inorgánicos naturales más importantes se encuentran arcillas como la bentonita, piedra pómez y sílice y dentro de los soportes inorgánicos sintéticos están los diferentes óxidos metálicos, nanopartículas magnéticas, nanopartículas metálicas, vidrio de poro controlado y vidrio no poroso, alúmina y gel de sílice (Rangel Ortiz, 2019).

Soportes poliméricos: Actualmente se han buscado soportes que presenten características esenciales para inmovilizar enzimas, uno de ellos son los soportes poliméricos como materia prima. Existen diferentes tipos de soportes poliméricos, los cuales se pueden clasificar de la siguiente manera.

- Polímeros naturales:
 - Polisacáridos (celulosa, almidón, dextranos, agar-agar, agarosa, alginatos, quitina, quitosano, etc.)
- Polímeros sintéticos:
 - Poliolefinas (como el poliestireno).

- Polímeros acrílicos (poliacrilatos, poliacrilamidas, polimetacrilatos, etc.) otros tipos (alcohol polivinílico, poliamidas, etc.) (Gómez-Chávez, 2020).

Algunos estudios utilizan como base soportes poliméricos como la obtención de microesferas poliméricas con actividad enzimática para la degradación catalítica de plaguicidas en medio acuoso. Por lo que se han sintetizado microesferas de poli (glicidil metacrilato), con dos tipos de grupos funcionales superficiales tales como la hidracina y oxirano para la obtención de biocatalizadores con amplio rango de pH para aplicaciones en la degradación de compuestos recalcitrantes a nivel científico e industrial (Ruiz y col., 2020).

Además, se ha estudiado la inmovilización de la lipasa sobre un soporte de quitosano para el tratamiento de agua, con contenido de grasa y aceites de origen animal. Por lo que se usaron tres tamaños de partícula del soporte de 1520 μm , 1684 μm y 2000 μm en un método irreversible de entrecruzamiento con glutaraldehído. El estudio permitió inmovilizar la enzima catalítica en periodos prolongados (Valenzuela-Jaramillo y col., 2022).

Por otra parte, se han usado sustancias poliméricas extracelulares inmovilizadas en un polisacárido aniónico como el alginato de sodio para absorber metales pesados como el (Pb²⁺), cromo (Cr⁴⁺) y cobre (Cu²⁺) contenidos en una matriz acuosa sintética. Encontrando que las perlas con sustancias poliméricas extracelulares inmovilizadas presentan gran potencial para ser utilizadas como biosorbente, en el tratamiento de aguas contaminadas con metales pesados (Mesías y col., 2022)

Acorde con esto, los últimos años la inmovilización de enzimas en soportes poliméricos es de gran importancia dado que pueden contener grupos funcionales reactivos en sus cadenas poliméricas que los funcionalizan para aumentar su reactividad, funcionalidad y potencializar sus propiedades (Kakaei y col., 2019).

La Figura 4 muestra de manera visual la clasificación dependiendo del origen de los principales tipos de soportes utilizados para la inmovilización enzimática (Meneau-Hernández y col., 2021).

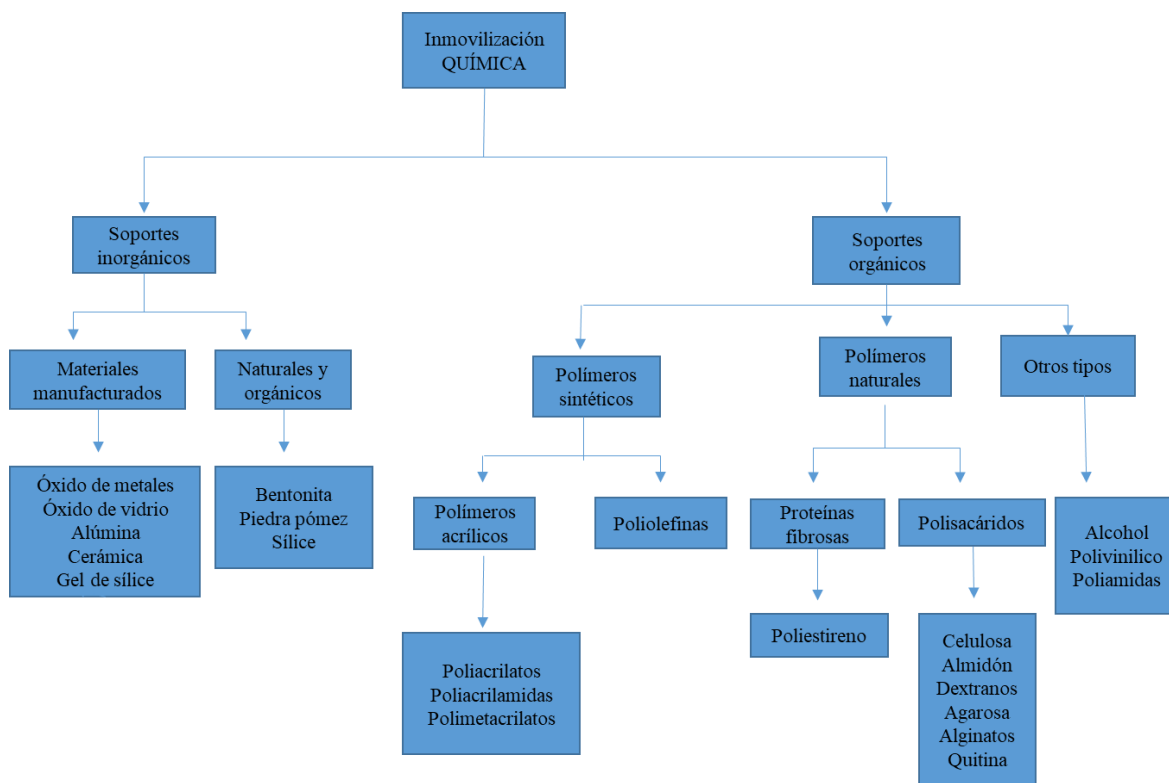


Figura 4. Materiales más utilizados en la inmovilización de enzimas según su origen pueden ser orgánicos o inorgánicos elaboración propia.

Al seleccionar algún tipo de inmovilización, se debe tener en cuenta la reacción y condiciones en las que se va a desarrollar. Tal es el caso de los soportes en los que se lleva a cabo la inmovilización, ya que deben presentar resistencia mecánica adecuada a las condiciones de operación, ser fácilmente separable del medio para que pueda ser reutilizado (Darwesh y col., 2020). Además, debe presentar afinidad entre el material que se utilizara de soporte y la enzima que se pretende inmovilizar,

para lo cual los grupos funcionales que contengan tanto la enzima como el soporte interaccionen entre sí para dar lugar a diferentes tipos de reacciones como esterificación, hidrólisis y oxidación. Este tipo de reacciones dependerá específicamente de los grupos funcionales que estén relacionando en cuestión. En la Tabla 3, se explican los tipos de soportes afines a algún tipo de enzima específica y la reacción que entre ellos se lleva a cabo. Cabe mencionar que, aunque en ocasiones, el soporte en cuestión, no contenga el grupo funcional requerido en su superficie, para que puedan llevar a cabo cierta reacción específica que pueda lograr la inmovilización de la enzima. Sin embargo, esto es posible por otros métodos, donde se requiere principalmente manipular las propiedades superficiales del soporte, para introducir en la superficie de este, el grupo funcionales requerido para que la reacción pueda llevarse a cabo (Mérida y col., 2021). Entre las técnicas que están llamando más la atención para llevar a cabo estos procedimientos, se encuentra la modificación superficial por plasma (Ñañez Azaña, 2021).

En la siguiente tabla se muestran los diversos materiales utilizados como soportes sólidos de diversas naturalezas (orgánicos e inorgánicos, naturales y sintéticos) en los que se puede realizar la inmovilización de enzimas. Entre los que destacan se encuentran los soportes poliméricos sintéticos y las nanopartículas metálicas magnéticas que no son biodegradables, debido a que gracias a ellos el material con la enzima inmovilizada puede ser recuperado y reutilizado varias veces, no así cuando la enzima se inmoviliza en un material biodegradable como el quitosano, por ejemplo. Sin embargo, los soportes poliméricos sintéticos representan una mayor ventaja que las nanopartículas metálicas magnéticas, debido a que actualmente estos están ocasionando una grave problemática de contaminación, que podría ser minimizada con su reutilización en esta tecnología para darle un mayor valor agregado a este producto y un uso con un mayor tiempo de vida (Rodríguez Llegado, 2019)

Tabla 3. Tipos de materiales utilizados como soportes sólidos para la inmovilización de enzimas, así como la reacción de aplicación. Elaboración propia.

Materiales aplicados como soporte sólido en inmovilización de enzimas		
Material de soporte	Enzima inmovilizada	Reacción de aplicación
Sílice	CALB	Esterificación
Zeolitas	Proteasa alcalina de <i>Solanum melongena</i>	Hidrólisis de caseína
Carbono activado	Tirosinasa, glucosa oxidasa,	Oxidación D-glucosa y
Nanotubos de Carbono	CALB	L-3,4dihidroxifenilalanina Hidrólisis de p-NO ₂ Ph-palmitato
Al ₂ O ₃	Cloroperoxidasa	Oxidación de dibenzotiofeno
ZrO ₂	α-amilasa	Hidrólisis de almidón
Dióxido de estaño	Lipasa de <i>Rhizopus delemar</i>	Esterificación
Magnetita	Lipasa de <i>Candida rugosa</i>	Hidrólisis de tributirina
Alginato	Xilanasas de levan	Hidrólisis de xilanos
Quitosano	Inulinasa de levadura	Hidrólisis de inulina
Colágeno	Catalasa	Descomposición de H ₂ O ₂
Gelatina	α-amilasa	Hidrólisis de almidón
Poliestireno	Deshidrogenasa	Conversión de formaldehído a metanol
Variantes de Poliacrilato	<i>Thermomyces lanuginosa</i> , <i>Rizomucor mehieii</i> , CALB	Hidrólisis de tristearina, Esterificación

Poliamida	Lipasa de <i>Bacillus coagulans</i>	Hidrólisis de p-NO ₂ Ph-palmitato
Fibra de coco verde	Lacasa	Degradación de colorantes textiles
Fibra de tallos de maíz	Amilasa, Lipasa	X
Membrana Interna De Cáscara De Huevo	Oxalato oxidasa, glucosa oxidasa, Peroxidasa	X

En la Tabla 3 se aprecian las reacciones que destacan y son más comunes en el proceso de la inmovilización por ejemplo la hidrólisis y la esterificación. Esta última es la reacción que se caracteriza por sintetizar ésteres, sustancias de gran importancia a nivel industrial, y están presentes en los productos naturales de origen animal y vegetal. Por otra parte, la hidrólisis también se caracteriza por ser una reacción química que se da entre moléculas o iones tanto inorgánicos como orgánicos (Cagliari & Macaño, 2010).

Conclusiones

En esta revisión se abordaron avances de las enzimas inmovilizadas sobre materiales poliméricos naturales y sintéticos, así como inorgánicos de los últimos años, presentando las ventajas de unos con respecto a otros. Se encontró que la inmovilización de enzimas es una de las técnicas más prometedoras para el desarrollo de los procesos biotecnológicos en el ámbito de la investigación por ser económica, rápida y ambientalmente benigna ya que no genera residuos, por lo que su aplicación se ha diversificado y se han mejorado procesos de producción en la industria, en el área de alimentos, biotecnología, farmacia, bioproductos de interés

científico y económico, en la resolución de problemas ambientales para la eliminación de contaminantes, entre otros.

Por otro lado, la utilización de soportes a partir de materiales poliméricos sintéticos y/o nanopartículas magnéticas que se pueden recuperar representa un beneficio extra en la inmovilización de enzimas y la reutilización de estos materiales, principalmente de los materiales poliméricos sintéticos que son un problema de emergencia internacional por la contaminación que están ocasionando y que esta investigación los convierte en una alternativa de gran importancia precisamente por ser de no fácil degradación y que pueden ser recuperados y reutilizados con facilidad, como soportes para inmovilización de enzimas y como solución de los desechos poliméricos que pueden volver a ser reutilizados con un valor agregado, con el fin de mitigar problemas que afectan a la sociedad.

Por otro lado, el desarrollo de esta técnica se sigue estudiando, con el fin de descubrir y encontrar nuevas aplicaciones y materiales o combinación de estos mejorados, que a futuro pueden proporcionar la solución de problemas en los ámbitos que enfrenta la sociedad. Es importante generar investigaciones de revisiones como la presente con el fin de visualizar y generar oportunidades de investigaciones, para expandir el conocimiento y generar beneficios a la sociedad.

Agradecimientos

Se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca con No. CVU 1183277 para la realización de este posgrado. Se agradece también al COECYT y al Gobierno del Estado de Coahuila por medio del fondo FONCYT por el financiamiento para la realización de esta investigación. Se agradece a la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Coahuila, por ofrecer el posgrado en Ciencia y Tecnología Química, y a su vez, proporcionar las instalaciones y equipos necesarios para el desarrollo de ese trabajo.

Referencias bibliográficas

- Ahlawat, J., Henriquez, G., & Narayan, M. (2018). Enhancing the Delivery of Chemotherapeutics: Role of Biodegradable Polymeric Nanoparticles. *Molecules*, 23(9): 2157 Article 9. <https://doi.org/10.3390/molecules23092157>
- Arana-Peña, S., Carballares, D., Morellon-Sterling, R., Berenguer-Murcia, Á., Alcántara, A. R., Rodrigues, R. C., & Fernandez-Lafuente, R. (2021). Enzyme co-immobilization: Always the biocatalyst designers' choice...or not? *Biotechnology Advances*, 51 :107584. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2020.107584>
- Ariza León, E., Castro Cely, A. L., & Gómez Cañon, D. (2013). Factibilidad del uso del almidón de achira como agente controlador de filtrado en lodos de perforación base agua. *Revista ION*, 26(1): 63-71.
- Beltrán, E. D., & Castrillón, M. T. V. (2015). Inmovilización de proteasas en nanopartículas. *Revista Iberoamericana de Producción Académica y Gestión Educativa*, 2(4): Article 4. <https://www.pag.org.mx/index.php/PAG/article/view/387>
- Cabral, H. A., Adame, J. J. D., Neria, G. C., Constantino, C. A. L., & Hernández, R. I. B. (2018). Inmovilización de enzimas. *Pädi Boletín Científico de Ciencias Básicas e Ingenierías del ICBI*, 5(10): Article 10. <https://doi.org/10.29057/icbi.v5i10.2895>

- Cacho Salán, B. (2020). *Recientes avances y aplicaciones de la enzima glucosa oxidasa inmovilizada por unión covalente* [Tesis Maestría, universidad de Valladolid] <https://uvadoc.uva.es/handle/10324/45283>
- Caglieri, S. C., & Macaño, H. R. (2010). Estudio Teórico de la Hidrólisis de Ésteres Alifáticos y Aromáticos. *Información tecnológica*, 21(4): 67-73. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642010000400009>
- Cardona Serrate, F. (2020). *Los enzimas. Introducción a la enzimología*. [Tesis Doctoral Universidad Nacional del Sur, Argentina, México]. <https://riunet.upv.es/handle/10251/146362>
- Casique-Arroyo, G., Martínez-Gallardo, N., Vara, L. G. de la, & Délano-Frier, J. P. (2014). Betacyanin Biosynthetic Genes and Enzymes Are Differentially Induced by (a)biotic Stress in *Amaranthus hypochondriacus*. *PLOS ONE*, 9(6): e99012. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0099012>
- Castañeda, M. T. (2019). *Enzimas de interés biotecnológico*. [Tesis Doctoral Universidad nacional de la plata]. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/89649>
- Castellanos Perilla, M. V., Sánchez Díaz, D. C., Pataquiva Mateus, A., Echeverry Ocampo, M. A., Dotor Robayo, Á. L., & Ramos Kalmar, E. (2018). Nanoestructuración y experimentación de fibras proteicas para superficies textiles y moda sostenible. *Ingeniare*, 24: 47-64.
- Castromonte, M., Wacyk, J., Valenzuela, C., Castromonte, M., Wacyk, J., & Valenzuela, C. (2020). Encapsulación de extractos antioxidantes desde sub-

- productos agroindustriales: Una revisión. *Revista chilena de nutrición*, 47(5): 836-847. <https://doi.org/10.4067/s0717-75182020000500836>
- Cebrián Cabo, S. (2020). *Nuevos métodos y soportes para la inmovilización de enzimas*. [Tesis Maestría, Universidad Politécnica de Valencia] <https://riunet.upv.es/handle/10251/147843>
- Corell Escuin, P., García-Bennett, A., Ros-Lis, J. V., Argüelles Foix, A., & Andrés, A. (2017). Application of mesoporous silica materials for the immobilization of polyphenol oxidase. *Food Chemistry*, 217: 360-363. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.08.027>
- Coronado Arrázola, I. (2020). *Characterization of bacterial heme oxygenase ChuS of probiotic strain E. coli Nissle 1917 and its potential therapeutic uses*. *Frontiers in immunology*, 9: 1956. <https://doi.org/10.7764/tesisUC/BIO/28911>
- Darwesh, O. M., Ali, S. S., Matter, I. A., Elsamahy, T., & Mahmoud, Y. A. (2020). Chapter Twenty—Enzymes immobilization onto magnetic nanoparticles to improve industrial and environmental applications. En C. V. Kumar (Ed.), *Methods in Enzymology* (Vol. 630, pp. 481-502). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/bs.mie.2019.11.006>
- Elnashar, M. M. M. (2010). Review Article: Immobilized Molecules Using Biomaterials and Nanobiotechnology. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, 01(01): Article 01. <https://doi.org/10.4236/jbnb.2010.11008>

Espinoza Montero, P. J., & Fernández Martínez, L. M. (2020). *Electrodos modificados con nanopartículas de oro y su aplicación en biosensores electriquímicos que utilizan peroxidasa de rábano como sistema de bioreconocimiento biológico: Detección de peróxido de hidrógeno*. Repositorio de publicaciones científicas de la Pontificia Universidad del Ecuador. <https://doi.org/10.26807/ia.vi.179>

Evangelista Martínez, Z., Enríquez, R., & Gabriel. (2017). *Potencial biotecnológico de las actinobacterias aisladas de suelos de México como fuente natural de moléculas bioactivas: Compuestos antimicrobianos y enzimas hidrolíticas*.

REPOSITORIO

NACIONAL

CONACYT

<http://repositorio.utm.mx:8080/jspui/handle/123456789/364>

Fajardo Ochoa, R., Osuna-Castro, J., Villa Velázquez, C., Escalante-Minakata, P., & Ibarra-Junquera, V. (2011). Inmovilización de células y enzimas. *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila*, 3: 42-56.

Godoy, C. A., Rodríguez Stouvenel, A., Rodríguez, D. F., Medina, J., & Sinisterra, J. C. (2018). *Biocatalizadores basados en lipasas coimmobilizadas para la síntesis de esteres etílicos de ácidos grasos*. *Biblioteca Digital Universidad del Valle* <http://hdl.handle.net/10893/11114>

Gómez-Chávez, L. (2020). Polímeros. *Con-Ciencia Boletín Científico de la Escuela Preparatoria No. 3*, 7(13): Article 13

Hernández, A. D. (2017). *Co-inmovilización de una xilanasas y celulasa en un soporte magnético de quitosano para la obtención de oligosacáridos a partir de un*

desecho agroindustrial. [Tesis de Maestría, Universidad Autónoma de Querétaro] <https://ri-ng.uaq.mx/handle/123456789/1337>

Jaimes-Santoyo, J., Montesinos-Sampedro, A. de, Barbosa-Cobos, R. E., Moreno-Mutio, S. G., Rodríguez-Ballesteros, D., Ramos-Cervantes, T., Ocharán-Hernández, M. E., Toscano-Garibay, J., & Beltrán-Ramírez, O. (2014). El Citocromo P-450. *Revista del Hospital Juárez de México*, 81(4): 250-256.

Jasso, B., & Gabriel, J. (2018). *Efecto de enzimas comerciales sobre la liberación de compuestos fitoquímicos de subproductos agroindustriales y evaluación de sus propiedades* [Tesis de maestría en ciencias en el área de biotecnología] universidad Autónoma de aguas calientes. Centro de Ciencias Básicas. Departamento de Quimica. <http://bdigital.dgse.uaa.mx:8080/xmlui/handle/11317/1673>

Kakaei, K., Esrafil, M. D., & Ehsani, A. (2019). Chapter 1—Introduction to Catalysis. En K. Kakaei, M. D. Esrafil, & A. Ehsani (Eds.), *Interface Science and Technology* (Vol. 27, pp. 1-21). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814523-4.00001-0>

Lagos Susaeta, D. I. (2016). *Producción de ácido pirúvico y gliceraldehído a partir de alginato mediante inmovilización enzimática en superficie celular* [Tesis de Maestría, Universidad de Chile Facultad de Ciencias y Matemáticas] <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/143659>

Liu, L., Lopez-Haro, M., Lopes, C. W., Li, C., Concepcion, P., Simonelli, L., Calvino, J. J., & Corma, A. (2019). Regioselective generation and reactivity control of

subnanometric platinum clusters in zeolites for high-temperature catalysis.

Nature Materials, 18(8): Article 8. <https://doi.org/10.1038/s41563-019-0412-6>

Madhumita, M., & Prabhakar, P. K. s. f. (2019). Inmovilización de enzimas en la alimentación y la agricultura: Principios, prácticas y perspectivas futuras.

(Primera edición). New York: Ed. Apple Academic Press. S.A. 4404 Pp.

Martínez-Damián, M. T., Cruz-Álvarez, O., Beryl Colinas-León, M. T., Rodríguez-Pérez, J. E., & Ramírez-Ramírez, S. P. (2013). Actividad enzimática y capacidad antioxidante en menta (*Mentha piperita* L.) almacenada bajo refrigeración. *Agronomía Mesoamericana*, 24(1): 57-69.

Maya Toro, G., Herrera, J. J., Orrego, J. A., Rojas, F., Rueda, M. F., & Manrique, E. J. (2018). Effect of ionic composition in water: Oil interactions in adjusted brine chemistry waterflooding: preliminary results. *Fuentes: El Reventón Energético*, 16(2): 73-82.

Meneau-Hernández, R. I., Millán-Arrieta, J. A., Borrego-Morales, K., Alba-Carranza, M. D., Farías-Piñeira, T., Meneau-Hernández, R. I., Millán-Arrieta, J. A., Borrego-Morales, K., Alba-Carranza, M. D., & Farías-Piñeira, T. (2021). Adsorción de ciprofloxacina en materiales zeolíticos. *Revista Cubana de Química*, 33(1): 167-190.

Mérida, J. B. S., Hernández, E. M. T., & Maldonado, C. L. V. (2021). La Ciencia de los Polímeros Biodegradables. *Jóvenes en la Ciencia: XXVI Verano de la Ciencia*. Vol. 10(2021). <http://repositorio.ugto.mx/handle/20.500.12059/6021>

- Mesías, J. A. A., Macías, L. L. D., Delgado, E. A. R., & Maddela, N. R. (2022). Adsorción de metales pesados utilizando sustancias poliméricas extracelulares inmovilizadas en un polisacárido aniónico. *Revista Colón Ciencias, Tecnología y Negocios*, 9(1): 114-133.
- Ñañez Azaña, R. E. (2021). *Modificación superficial de polímeros por tratamientos químicos y físicos* [Tesis de Licenciatura, Pontificia Universidad católica del Perú] <https://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/handle/20.500.12404/19726>
- Ortega –Ante, D. A. (2020). Enfoque de la Biotecnología Industrial en Ecuador y la Provincia de Esmeraldas. *Polo del Conocimiento: Revista científico - profesional*, 5(8): 1219-1227.
- Peralta, M. E. (2021). *Desarrollo de nanopartículas magnéticas con aplicaciones en medioambiente y nanomedicina* [Tesis, Universidad Nacional de La Plata]. <https://doi.org/10.35537/10915/112814>
- Pimentel, J. F. M. (2021). Importancia de la biotecnología enzimática en la industria de alimentos. *Journal Boliviano de Ciencias*, 17(Especial),: 105-106.
- Quilis Romero, C. (2019). *Zeolitas deslaminadas como soporte de enzimas para la hidrólisis de proteínas* [Tesis de Maestría, Instituto de Tecnología Química]. <https://riunet.upv.es/handle/10251/130032>
- Rangel Ortiz, J. I. (2019). *Soportes nanoestructurados de PVA funcionalizados con un organocatalizador base pirrolilquinona-tetrazol* [Tesis de Maestría Universidad Michoacana de san Nicolas de Hidalgo]. Repositorio

Institucional- Universidad Michoacana de San Nicolas.

http://bibliotecavirtual.dgb.umich.mx:8083/xmlui/handle/DGB_UMICH/2308

Rodríguez Llegado, A. A. (2019). Inmovilización enzimática de papaína en soporte esferular de quitosano y determinación comparativa de su actividad enzimática sobre la caseína [Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional Mayor de San Marcos].

<https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/10824>

Ruiz, C., Vera, M., L. Rivas, B., Sánchez, S., & F. Urbano, B. (2020). Magnetic methacrylated gelatin- g -polyelectrolyte for methylene blue sorption. *RSC Advances*, 10(71): 43799-43810. <https://doi.org/10.1039/D0RA08188D>

Salazar Carranza, L. A., Hinojoza Guerrero, M. M., Acosta Gaibor, M. P., Escobar Torres, A. F., Scrich Vázquez, A. J., Salazar Carranza, L. A., Hinojoza Guerrero, M. M., Acosta Gaibor, M. P., Escobar Torres, A. F., & Scrich Vázquez, A. J. (2020). Caracterización, clasificación y usos de las enzimas lipasas en la producción industrial. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 39(4): e620

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0864-

[03002020000400017&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0864-03002020000400017&lng=es&nrm=iso&tlng=es)

Sánchez-Ramírez, J., Martínez-Hernández, J. L., Segura-Ceniceros, E. P., Contreras-Esquivel, J. C., Medina-Morales, M. A., Aguilar, C. N., & Iliná, A. (2014). Inmovilización de enzimas lignocelulolíticas en nanopartículas

magnéticas. *Química Nova*, 37: 504-512. <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20140085>

Valenzuela-Jaramillo, I.-E., Mendoza-Meza, D., Valenzuela-Jaramillo, I.-E., & Mendoza-Meza, D. (2022). Lipasa de semillas de *Pachira speciosa* inmovilizadas en esferas de quitosano: Un sistema bio-catalítico reusable. *Bioteología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 20(1): 179-193. <https://doi.org/10.18684/bsaa.v20.n1.2022.1890>

Vergara-Duque, D., Cifuentes-Yepes, L., Hincapie-Riaño, T., Clavijo-Acosta, F., Juez-Castillo, G., & Valencia-Vidal, B. (2020). Effect of Silver Nanoparticles on the Morphology of *Toxoplasma gondii* and *Salmonella braenderup*. *Journal of Nanotechnology*, 2020: 1-11. e9483428. <https://doi.org/10.1155/2020/9483428>