

INDICE

RESUMEN.....	1
CAPITULO 1- Introducción General.....	3
1. 1. Generalidades de enzimas.....	4
1. 2. Mecanismos generales de desnaturalización de las enzimas.....	6
1. 3. Uso de enzimas en solventes orgánicos.....	8
1. 4. Mecanismo de inactivación de las enzimas en solventes orgánicos.....	12
1. 5. Estabilización de proteínas.....	13
1. 5. 1. Aspectos teóricos.....	13
1. 5. 2. Aspectos prácticos. Estrategias utilizadas para mejorar la estabilidad de los biocatalizadores.....	16
1. 6. Caracterización cinética de la inactivación enzimática.....	21
1. 7. Características de las β -galactosidasas.....	22
OBJETIVOS.....	26
CAPITULO 2- Efecto del nano-ambiente. Influencia de la temperatura y de co-solventes orgánicos en las propiedades de la β -galactosidasa de <i>E. coli</i> soluble e inmovilizada.....	27
2. 1. Introducción.....	28
β -Galactosidasa de <i>Escherichia coli</i>	28
Relevancia de la cinética enzimática.....	32
Características de los solventes orgánicos utilizados.....	35
Inmovilización de proteínas a un soporte sólido.....	36
2. 2. Resultados y Discusión.....	37
2. 2. 1. Artículo I. Actividad y estabilidad de la β -galactosidasa de <i>Escherichia coli</i> en sistemas de co-solventes.....	37
2. 2. 2. Artículo II. Creación de nano-ambientes favorables para la estabilización térmica y frente a solventes orgánicos de la β -galactosidasa inmovilizada.....	42
2. 3. Conclusiones.....	48
CAPITULO 3- Influencia de la química de inmovilización en las propiedades de las β -galactosidasas de <i>Kluyveromyces lactis</i> y de <i>Escherichia coli</i>	50
3. 1. Introducción.....	51
Inmovilización en soportes glutaraldehído-agarosa.....	51
β -Galactosidasas de <i>Kluyveromyces lactis</i> y <i>Escherichia coli</i>	52
3. 2. Resultados y Discusión.....	54
Artículo III. Influencia de la química de inmovilización en las propiedades de β -galactosidasas inmovilizadas.....	54
3. 3. Conclusiones.....	61
CAPITULO 4- Estudio de la hidrofiliación de derivados inmovilizados de β -galactosidasa como estrategia para la estabilización frente a co-solventes orgánicos.....	63
4. 1. Introducción.....	64
4. 2. Resultados y discusión.....	65
4. 2. 1. Artículo IV. Efecto del aumento en la concentración de co-solvente sobre la estabilidad de β -galactosidasa soluble e inmovilizada.....	65
4. 2. 2. Artículo V (inédito). La hidrofiliación de enzimas modelo inmovilizadas como método general para alcanzar estabilización de la proteína en co-solventes orgánicos polares.....	68
4. 3. Conclusiones.....	80
CONSIDERACIONES GENERALES.....	81
REFERENCIAS.....	85
AGRADECIMIENTOS.....	96
ANEXOS.....	98