

INDICE

	Pág.
Resumen	
Abstracta	
1.- Introducción	1
1.1.- Hipótesis	2
1.2.- Objetivo general	2
1.3.- Objetivos específicos	2
2.- Revisión bibliográfica	3
2.1.- Fertilizantes	3
2.1.1.- Problemática de los fertilizantes en uso	3
2.1.2.- Alternativas de fertilización	4
2.1.3.- Ventajas de biofertilizantes v/s fertilizantes convencionales	5
2.1.4.- Biofertilizantes enzimáticos	6
2.2.- Inmovilización enzimáticas	7
2.2.1.- Métodos de inmovilización	8
2.2.1.1.- Retención Física	8
2.2.1.2.- Unión Química	9
2.2.2.- Efectos de la inmovilización	10
2.2.2.1.- Efectos en la estabilidad	10
2.2.2.2.- Efectos en la actividad enzimáticas	11
2.3.- Soportes para la inmovilización	11
2.3.1.- Alofán	12
2.3.2.- Zeolita	13
2.4.- Enzimas en el suelo	14
2.4.1.- Funciones de las enzimas en el suelo	15
2.4.2.- Arilsulfatasa	15
2.4.3.- Fosfatasa ácida	17
2.4.4.- Formación de complejos enzima-arcilla	19
3.- Materiales y métodos	20
3.1.-Materiales	20
3.1.1.- Enzimas	20
3.1.2.- Sustratos	20
3.1.3.- Soportes	20
3.1.4.- Reactivos y equipos	20
3.2.- Métodos	21
3.2.1.- Determinación de la actividad enzimática	21
3.2.2.- Determinación de proteína	22
3.2.3.- Microscopía electrónica de transmitancia	22

3.3.- Diseño experimental	22
3.3.1.- Efecto de la presencia de iones en actividad de la enzima fosfatasa ácida libre.	22
3.3.2.- Determinación de la actividad arilsulfatasa libre e inmovilizada en alofán y dos zeolitas de distinta procedencia.	22
3.3.3.-Evaluación del efecto de distintas relaciones enzima:soporte en la inmovilización de arilsulfatasa en alofán y dos zeolitas de distinta procedencia	23
3.3.4.- Estudio de distintos parámetros químicos para incrementar la eficiencia de la inmovilización de arilsulfatasa en alofán	23
3.3.5.- Determinación de actividad fosfatasa ácida libre e inmovilizada en alofán y dos zeolitas de distinta procedencia	24
3.3.6.- Efecto de la temperatura sobre el proceso de inmovilización de fosfatasa ácida en alofán y dos zeolitas de distinta procedencia	24
4.- Resultados y discusiones	25
4.1.- Ensayo preliminar	25
4.2.- Determinación de actividad arilsulfatasa en alofán y dos zeolitas de distinta procedencia.	25
4.3.- Evaluación del efecto de distintas relaciones enzima:soporte en la in- movilización de arilsulfatasa en alofán y dos zeolitas de distinta procedencia	26
4.4.- Estudio de distintos parámetros químicos para incrementar la eficiencia de la inmovilización de arilsulfatasa en alofán	28
4.5.- Determinación de la actividad fosfatasa ácida libre e inmovilizada en alofán y dos zeolitas de distinta procedencia	29
4.6.- Efecto de la temperatura sobre el proceso de inmovilización de fosfatasa ácida en alofán y dos zeolitas de distinta procedencia	29
4.7.- Microscopia electrónica de transmitancia	30
5.- Conclusiones	33
6.- Anexos	34

INDICE DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1.- Combinación de los factores ensayo 3.3.2	23
Cuadro 2.- Combinación de los factores ensayo 3.3.3	23
Cuadro 3.- Combinación de los factores ensayo 3.3.4	24
Cuadro 4.- Combinación de los factores ensayo 3.3.5	24
Cuadro 5.- Efecto de la presencia de iones en la actividad de la enzima fosfatasa ácida libre	25
Cuadro 6.- Actividad arilsulfatasa en las fracciones SN y AL para los tratamientos A1, A2 y A3	26
Cuadro 7.- Porcentaje de actividad arilsulfatasa libre e inmovilizada en distintos soportes (alofán-zeolita 1-zeolita 2) en las fracciones CI, SN y AL obtenidas con distintas relaciones E:S.	27
Cuadro 8.- Porcentaje de proteína en las fracciones de SN y AL obtenidos durante el proceso de formación de los CI de arilsulfatasa inmovilizada en alofán, zeolita 1 y zeolita 2 (calculados en base a la enzima libre).	28
Cuadro 9.- Efecto del pH y fuerza iónica sobre porcentaje de actividad arilsulfatasa libre (A0) e inmovilizada (A1) en alofán, en las fracciones CI, SN y AL.	28
Cuadro 10.- Porcentaje de proteína en las fracciones de SN + AL obtenidos durante el proceso de inmovilización de arilsulfatasa en alofán con cambio de pH y fuerza iónica (calculado en base a la enzima libre).	28
Cuadro 11.- Porcentaje de actividad enzimática obtenida a través de distintos procesos de formación de complejos (sin centrifugar, C1; con centrifugar, C2; 20°C, T1; 30°C, T2).	29
Cuadro 12.- Porcentaje de proteína en las fracciones de SN + AL y el efecto que provoca la temperatura a través del proceso de inmovilización de fosfatasa ácida en alofán y dos zeolitas de distinta procedencia.	30

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.- Diagrama de utilización de enzima y su efecto	7
Figura 2.- Inmovilización de enzimas por técnicas de retención física	9
Figura 3.- Inmovilización de enzimas por técnicas de retención químicas	10
Figura 4.- Estabilización enzimática a través de la inmovilización	11
Figura 5.- Microscopía electrónica de barrido de un alofán proveniente de la serie Pemehue	12
Figura 6.- Esquema gráfico de una esférula de alofán	13
Figura 7.- Microscopía de zeolita	14
Figura 8- Representación de una arilsulfatasa vegetal	16
Figura 9.- Representación de una arilsulfatasa (A) humana	16
Figura 10.- Representación de la superficie molecular de una fosfatasa ácida de <i>Phaseolus vulgaris</i>	18