

CONTRATO PARA EL FINANCIAMIENTO DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN CABBIO 2023

En la ciudad de Montevideo, el día 12 de setiembre de 2024, comparecen: POR UNA PARTE, la Dirección Nacional de Innovación, Ciencia y Tecnología (en adelante DICYT), del Ministerio de Educación y Cultura (en adelante MEC), con sede en esta ciudad y constituyendo domicilio en la calle Reconquista 543, representada en este acto por Alberto Majó Piñeyrúa en su calidad de Director; y POR OTRA PARTE a) la Facultad de Química de la Universidad de la República Oriental del Uruguay (en adelante FQ-UdelaR) con sede en esta ciudad y constituyendo domicilio en la calle Avda. General Flores 2124, representada en este acto por Alvaro Mombrú en su calidad de Decano, b) la Fundación para el Progreso de la Química (en adelante FUNDAQUIM), con sede en esta ciudad y constituyendo domicilio en la calle Isidoro de María 1616 Piso 5, representada en este acto por Alvaro Mombrú en su calidad de Presidente y Adriana Gámbaro en su calidad de integrante del Consejo de Administración Honorario c) las Dras. Karen Ovsejevi Gándara C.I. 1.665.199-2 y Larissa Gioia Fabre C.I. 4.550.627-7 constituyendo domicilio a los efectos del presente contrato en la calle de esta ciudad, en su calidad de responsables científicas, quienes convienen en celebrar un contrato de préstamo no reembolsable, que se regirá por las cláusulas que a continuación se estipulan: -----

63

PRIMERA: ANTECEDENTES.

Las Dras. Karen Ovsejevi y Larissa Gioia gestionaron el financiamiento ante la DICYT (Unidad Ejecutora 012 DICYT del Inciso 11 MEC), en el marco de la Convocatoria 2023 para la presentación de Proyectos Conjuntos de

45
Kao

investigación en el marco del Centro Latinoamericano de Biotecnología (CABBIO) del que forma parte Uruguay. Su propuesta, de la cual son responsables científicas a nivel nacional, se identifica con el número CABBIO/2023/11, y es denominada "Nanobioingeniería para la eliminación de contaminantes emergentes en aguas: Inmovilización de lacasas fúngicas en materiales mesoporosos para la degradación de estrógenos", fue aprobada para financiamiento en el acta de la 6ta. Reunión Ordinaria del Consejo Directivo de CABBIO realizada los días 30 de octubre a 1ero. de noviembre de 2023 en formato híbrido (virtual y presencial) organizada por Brasil en la ciudad de Brasilia. -----

SEGUNDA: OBJETO.

DICYT se compromete a otorgar a las Dras. Karen Ovsejevi y Larissa Gioia y estas aceptan, un financiamiento no reembolsable de \$ 900.000 (novecientos mil pesos uruguayos) a fin de ejecutar el proyecto aprobado, que forma parte integrante de este contrato. -----

TERCERA: FORMA DE PAGO.

FUNDAQUIM recibirá los fondos otorgados al proyecto para su administración. La ejecución financiera del proyecto se realizará en base al presupuesto aprobado, que forma parte del contrato celebrado. Se estipula un cronograma de pagos en tres partidas: a) la primera al inicio de los trabajos de ejecución del proyecto, equivalente al 45% del monto total aprobado (\$ 405.000.-, cuatrocientos cinco mil pesos uruguayos) ; b) la segunda al finalizar la primera etapa de ejecución del proyecto, por un monto equivalente al 45% del monto total aprobado (\$ 405.000.- cuatrocientos cinco mil pesos uruguayos), contra la presentación de su respectivo "Informe Técnico de Avance", así como de la rendición de cuentas correspondiente.

Esta rendición de cuentas deberá justificar una ejecución financiera mayor o igual al 80% del monto recibido por concepto de primer desembolso; c) el pago final, por el equivalente al 10% del monto total aprobado (\$ 90.000 novena mil pesos uruguayos), será retenido por DICYT hasta la aprobación del Informe Técnico Final por parte de DICYT, presentado por parte de la responsable científica y de la segunda rendición de cuentas. Dicha suma será entregada en carácter de reembolso de gastos, a diferencia de los dos desembolsos previos. -----

CUARTA: EJECUCIÓN FINANCIERA.

DICYT entregará a FUNDAQUIM la totalidad del financiamiento de acuerdo a lo estipulado en la cláusula tercera y sujeto a su disponibilidad financiera. FUNDAQUIM retendrá un porcentaje del monto total aprobado, por concepto de gastos de gestión y administración. Las partes exoneran de responsabilidad a DICYT por los daños y perjuicios que el atraso en los desembolsos y/o la interrupción de actividades pudiera producir. -----

QUINTA: MANEJO DE LOS FONDOS.

I) Los desembolsos realizados por DICYT quedarán condicionados al cumplimiento de los siguientes requerimientos: a) que el avance de las actividades y la concordancia con los gastos efectuados sean aprobados por la DICYT; b) que la totalidad de los gastos realizados sean pertinentes y conformes al proyecto presentado; c) que los comprobantes cumplan con las disposiciones legales vigentes. II) Ante cualquier irregularidad que se detecte con relación al manejo de los fondos la DICYT pondrá el hecho en conocimiento de la autoridad competente y suspenderá de inmediato los

desembolsos acordados del subsidio. Constatada la infracción y/o en su caso delito, el contrato quedará rescindido de pleno derecho, sin necesidad de interpelación judicial o extrajudicial alguna y se exigirá la devolución de las cantidades ya desembolsadas. III) Si al finalizar el proyecto existieran fondos desembolsados y no ejecutados, deberán ser devueltos a la DICYT. -----

SEXTA: ADQUISICIONES DE BIENES Y SERVICIOS.

Las adquisiciones realizadas con fondos otorgados por DICYT al proyecto deberán ser debidamente identificadas en la documentación de respaldo y se adecuarán a los procedimientos de adquisición de acuerdo a la normativa vigente. -----

SÉPTIMA: PERÍODO DE EJECUCIÓN

La fecha de inicio de ejecución del proyecto será la del primer desembolso, que estará sujeta a la intervención del gasto por parte del Tribunal de Cuentas de la República. El presente contrato regirá hasta su completa ejecución con un plazo máximo de treinta y seis (36) meses desde la fecha de inicio. La parte beneficiaria se obliga a ejecutar el proyecto en el plazo máximo de treinta y seis (36) meses desde la fecha de inicio. -----

OCTAVA: PRÓRROGA.

En caso de que se produzcan demoras y/o suspensiones en las entregas del financiamiento acordado en el presente contrato, así como atrasos debidamente justificados por la responsable científica en la ejecución técnica, se podrá prorrogar el plazo previsto para el proyecto, el cual no podrá ser mayor a un año. Esta prórroga se realizará con el acuerdo de las partes firmantes de este contrato y se procederá a realizar una adenda al mismo que incluya esta modificación. -----



NOVENA: OBLIGACIONES.

Las responsables científicas, Dras. Karen Ovsejevi y Larissa Gioia, se obligan a:

a) cumplir con el objetivo general y los objetivos específicos del proyecto de acuerdo a la metodología propuesta y al cronograma de actividades aprobado; b) entregar a DICYT un Informe Técnico de Avance al culminar la primera etapa del proyecto; c) entregar a DICYT un Informe Técnico Final con toda la información generada a través del mismo al culminar el proyecto, sin perjuicio de los datos e informes parciales presentados; d) proporcionar toda la información que DICYT requiera a los efectos del seguimiento técnico y económico financiero del proyecto; e) asumir los incrementos de costos que pudieran surgir respecto del proyecto originalmente aprobado. DICYT se obliga a realizar los desembolsos correspondientes, de acuerdo a lo establecido en la cláusula quinta del presente contrato. FUNDAQUIM, se obliga a: a) presentar rendiciones de cuentas de los gastos del proyecto de acuerdo a las disposiciones de la Ordenanza No. 77 del Tribunal de Cuentas de la República; b) mantener la documentación del proyecto a entera disposición de DICYT para las auditorías que se pudieran realizar y por los plazos legales vigentes. FQ-UDELAR se obliga a garantizar el acceso a las instalaciones necesarias para la ejecución del proyecto. Una vez finalizado el presente contrato, las partes estarán obligadas a suministrar a la DICYT la información que esta requiera por el término de cinco años desde la finalización del presente contrato. -----

DÉCIMA: INCUMPLIMIENTO.

En caso de incumplimiento de las obligaciones asumidas en el presente contrato, DICYT podrá proceder a la rescisión del mismo de acuerdo a la reglamentación vigente. En caso de rescisión, se exigirá la devolución de los montos ya desembolsados y no ejecutados correspondientes a actividades no realizadas. -----

DÉCIMO PRIMERA: RESCISIÓN UNILATERAL.

Se pacta expresamente la rescisión unilateral a favor de DICYT, previa resolución. Aceptada la rescisión unilateral se exime a las partes la devolución de montos, materiales y/o equipos, salvo lo establecido en la cláusula décimo segunda. -----

DÉCIMO SEGUNDA: RESPONSABILIDAD SOBRE LOS EQUIPOS.

Los equipos adquiridos en el marco del proyecto serán propiedad de FQ-UDELAR, que se responsabiliza por los daños y perjuicios que pudieran sufrir los equipos financiados por DICYT, no imputables a razones de fuerza mayor o hecho fortuito, así como aquellos derivados de su normal uso comprometiéndose a mantenerlos en estado de funcionamiento adecuado durante la ejecución del proyecto. -----

DÉCIMO TERCERA: EXONERACIÓN DE RESPONSABILIDAD.

La parte beneficiaria exonera de toda responsabilidad a DICYT por los daños y perjuicios que pudieran sufrir sus dependientes por el manejo de equipos y/o a consecuencia de la ejecución del proyecto, declarando asimismo que no mantienen con DICYT vinculación laboral alguna. -----

DÉCIMO CUARTA: REQUISITOS AMBIENTALES Y DE GÉNERO.

La parte beneficiaria declara conocer y aceptar la normativa medioambiental, de higiene y de seguridad laboral, y que sus actividades estarán en cumplimiento de la misma. b) La parte beneficiaria se compromete a evaluar los potenciales aspectos ambientales negativos, resultantes del uso de las tecnologías a ser desarrolladas. c) Asimismo, se obliga a incluir en el proceso de desarrollo medidas de mitigación de los impactos, que el Ministerio de Ambiente determine a tales efectos. d) La parte beneficiaria se compromete por el presente contrato a protegerla higiene de los trabajos involucrados en el uso de nuevas tecnologías por ella desarrolladas. e) La parte beneficiaria declara que conoce y acepta la legislación vigente en materia de género, referida a la igualdad de oportunidades para todas las personas, y que en los procesos de selección, evaluación, capacitación y fijación de remuneraciones del personal que contrate dará fiel cumplimiento a la misma. f) El no cumplimiento de los anteriormente expuesto por parte de la parte beneficiaria aparejará la rescisión de pleno derecho del presente contrato. ----

DÉCIMO QUINTA: DIFUSIÓN Y PROPIEDAD INTELECTUAL.

Toda publicación, comunicación o anuncio, cualquiera sea el medio por el que se efectúe en relación a resultados parciales o totales del proyecto, deberá hacer referencia a que el mismo fue ejecutado con el apoyo financiero de DICYT en el marco de su Convocatoria 2023 para la presentación de proyectos conjuntos de investigación del Centro Latinoamericano de Biotecnología (CABBIO) en Uruguay. No obstante, toda opinión o resultado que de la investigación se derive no comprometerá a DICYT, ni a FUNDAQUIM. Los temas y políticas relativas a propiedad intelectual, serán los habituales de FQ- UDELAR. La Udelar - FQ y las Dras. Karen Ovsejevi Gándara y Larissa Gioia

Fabre, en sus calidades de docentes de FQ, se regirán por lo dispuesto por la Ordenanza de los Derechos de la Propiedad Intelectual de la Universidad de la República aprobada por el Consejo Directivo Central de Udelar con fecha 8 de marzo de 1994 y demás normas concordantes y complementarias. -----

DÉCIMO SEXTA: USO DE IDENTIDAD VISUAL DEL MEC.

El material de difusión y comunicación vinculado al proyecto deberá evidenciar la participación del Ministerio de Educación y Cultura en iguales condiciones de visibilidad y dimensiones que los demás contratantes, mediante uso de logotipos, isotipos y demás, teniéndose en cuenta el "Manual de Marca del MEC". -----

DÉCIMO SÉPTIMA: CONFIDENCIALIDAD.

DICYT se obliga a manejar con reserva toda la información referida al proyecto, y exigirá las mismas condiciones a los Evaluadores y Consultores vinculados al mismo. -----

DÉCIMO OCTAVA: MODIFICACIONES AL PROYECTO.

La responsable científica deberá solicitar autorización a DICYT, y ésta será quien resolverá al respecto, junto el Comité Asesor CABBIO Uruguay, toda modificación en la metodología y cronograma de actividades de ejecución. Una vez autorizada la modificación, DICYT deberá comunicarla a FUNDAQUIM y a la responsable científica. -----

DÉCIMO NOVENA: MORA.

Queda pactada la mora automática de pleno derecho, sin necesidad de interpelación judicial o extrajudicial alguna por un hacer o no hacer algo contrario a lo estipulado. -----

VIGÉSIMA: COMPROMISO ANTICORRUPCIÓN.

Las partes se comprometen a observar y aplicar, de acuerdo a la normativa vigente, los más altos niveles éticos y estándares de transparencia en la ejecución del presente contrato, obligándose a obrar de tal manera que no se incurra en ningún tipo de acto de corrupción o conjunción de intereses público y privado. Cada una de las partes se obliga a mantener informada a la otra de cualquier situación que pueda percibirse o denotar un evento de corrupción o cualquier otra actividad que implique violación de la presente cláusula. El compromiso asumido en la presente cláusula constituye una obligación principal del contrato. -----

VIGÉSIMO PRIMERA: PREVENCIÓN DEL LAVADO DE ACTIVOS Y FINANCIACIÓN DEL TERRORISMO.

DICYT declara que los fondos que serán transferidos en virtud del objeto del presente contrato son de carácter público y/o que los mismos no provienen de actividades ilícitas; particularmente, de lavado de activos o financiación del terrorismo. Asimismo, las partes declaran que los referidos fondos no serán destinados para realizar o financiar ninguna de las mencionadas actividades ilícitas. -----

VIGÉSIMO SEGUNDA: JURISDICCIÓN Y LEY APLICABLE.

Toda contienda que se suscite con relación a este contrato que no pueda ser resuelta por vía de negociación directa, será sometida a los tribunales de la ciudad de Montevideo, República Oriental del Uruguay, aplicándose la legislación nacional vigente. -----

VIGÉSIMO TERCERA: COMUNICACIONES.

Todas las comunicaciones entre las partes se efectuarán por escrito a la parte correspondiente. -----

VIGÉSIMO CUARTA: NOTIFICACIÓN Y DOMICILIOS.

A todos los efectos a que diere lugar este Contrato, las partes constituyen domicilios en los indicados como respectivamente suyos en la comparecencia. De manera tal, que no mediando comunicación formal a la otra parte de cualquier variación que se produzca al respecto, será considerada válida toda comunicación, notificación, intimación o similares que se practiquen mediante telegrama colacionado u otro medio fehaciente que se dirija a los señalados domicilios. -----

Y PARA CONSTANCIA se firman cuatro ejemplares del mismo tenor en el lugar y fecha ut supra indicados. -----



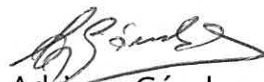
Alberto Majó
Director
DICYT-MEC



Alvaro Mombrú
Decano
Facultad de Química - UdelAR



Alvaro Mombrú
Presidente
Fundación para el Progreso de la
Química - FUNDAQUIM



Adriana Gámbaro
integrante del Consejo de
Administración Honorario
de FUNDAQUIM



Larissa Gioia
Responsable Científico



Karen Ovsejevi
Responsable Científico



Ministerio
de Educación
y Cultura

Dirección Nacional
de Innovación, Ciencia
y Tecnología



**CABBI, CENTRO LATINOAMERICANO DE BIOTECNOLOGÍA
CONVOCATORIA 2023 PARA LA PRESENTACIÓN DE PROYECTOS CONJUNTOS DE
INVESTIGACIÓN en Uruguay, Argentina y Brasil**

CABBI

CONVOCATORIA 2023

ESPACIO RESERVADO A CABBI URUGUAY - NO LLENAR	
Nº CONVOCATORIA	<input type="text"/> <input type="text"/>
Nº DE SOLICITUD	<input type="text"/>
FECHA DE PRESENTACIÓN	<input type="text"/> <input type="text"/> - <input type="text"/> <input type="text"/> - <input type="text"/> <input type="text"/>
RESOLUCIÓN	<input type="text"/>
FECHA DE RESOLUCIÓN	<input type="text"/> <input type="text"/> - <input type="text"/> <input type="text"/> - <input type="text"/> <input type="text"/>

DOCUMENTOS QUE DEBEN ACOMPAÑAR ESTE FORMULARIO (VERSIÓN ELECTRÓNICA COMPLETA POR MAIL)

1. Curriculum Vitae de los integrantes del grupo nacional de investigación (según formato tipo en Anexo 1, Cvuy, CvLAC, o similar).
2. Curriculum Vitae del responsable y co-responsable de los grupos extranjeros (según formato tipo en Anexo 1, Cvuy, CvLAC, o similar).
3. Carta de aval de la institución nacional respaldante (según especificado en las bases del llamado)
4. Cartas de aval de las instituciones contraparte en el exterior (según especificado en las bases del llamado)

X
X
X
X

NOTA: ORIGINAL IMPRESO CON FIRMAS URUGUAYAS ORIGINALES

1 INFORMACIÓN GENERAL SOBRE EL PROYECTO**1.1 TÍTULO DEL PROYECTO**

Nanobioingeniería para la eliminación de contaminantes emergentes en aguas: Inmovilización de lacasas fúngicas en materiales mesoporosos para la degradación de estrógenos

1.2 TÍTULO DEL PROYECTO EN INGLÉS

Nanobioengineering for the elimination of emerging contaminants in water: Immobilization of fungal laccases in mesoporous materials for the degradation of estrogens

1.3 ÁREA PRIORITARIA SEGÚN LA CONVOCATORIA:

(marcar solo una)

BIOTECNOLOGÍA INDUSTRIAL	
BIOTECNOLOGÍA AGROPECUARIA Y ACUICULTURA	
ENERGÍA	
SALUD HUMANA	
SANIDAD Y PRODUCCIÓN ANIMAL	
BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL	x
ALIMENTOS	
OTROS TEMAS EN BIOTECNOLOGÍA	

1.4 PALABRAS CLAVE:

Lacasas, materiales mesoporosos, estrógenos

1.5 FECHA DE INICIO: marzo 2024**1.6 INSTITUCIÓN NACIONAL**

RESPALDANTE: Facultad de Química, Universidad de la República Oriental del Uruguay

1.7 PARTICIPACIÓN DE OTRAS INSTITUCIONES NACIONALES Y EXTRANJERAS EN LA ACTIVIDAD PROPUESTA (en caso que corresponda)

INSTITUCIÓN	PAÍS	TIPO DE PARTICIPACIÓN
Centro de Investigación y Tecnología Química CITEQ-UTN-CONICET	Argentina	Uno de los grupos postulantes del proyecto. Participa en la funcionalización de los materiales mesoporosos desarrollados por el grupo brasileiro y en la síntesis de materiales con inclusión de metales
Universidade Federal do Rio Grande do Norte	Brasil	Uno de los grupos postulantes del proyecto. Participa en la síntesis de materiales mesoporosos y en la caracterización fisicoquímica de los materiales mesoporosos (vírgenes, funcionalizados y/o conteniendo metales) y de los biocatalizadores insolubles desarrollados

1.8 RESUMEN EN CASTELLANO (máximo 250 palabras o media carilla)

Los contaminantes emergentes son compuestos de origen antropogénico, cuya regulación está siendo abordada debido al incremento de su presencia en cuerpos de agua. Por su toxicidad, persistencia y acumulación pueden generar impactos negativos en la salud humana y el medio ambiente. Muchos de estos compuestos actúan como disruptores endócrinos, causando daños irreversibles en los ecosistemas. Por esta razón, se requieren tecnologías eficientes y ecológicas para su eliminación. Así, las biotransformaciones enzimáticas resultan de elección, especialmente si emplean enzimas con baja especificidad como es el caso de las lacasas.

El presente proyecto se plantea a partir de la detección de disruptores endócrinos en diversos recursos hídricos en Argentina, Brasil y Uruguay. La propuesta se centra en la combinación de la ingeniería de materiales y la biotecnología para desarrollar biocatalizadores insolubles capaces de reducir la concentración de sustancias hormonalmente activas en aguas. Para ello, se realizará la inmovilización de lacasas en materiales mesoporosos conteniendo diferentes grupos reactivos y/o metales. Esto permitirá no sólo reutilizar la enzima y diseñar procesos continuos, sino también generar una batería de derivados enzimáticos con distintas propiedades y capacidades catalíticas. La inmovilización de la enzima se realizará por adsorción o mediante enlace covalente reversible al soporte, posibilitándose en este caso, reutilizar el material cuando la enzima se inactiva por su uso continuo.

De esta forma, este proyecto busca desarrollar una nueva metodología para el tratamiento de aguas contaminadas aunando el potencial catalítico de las lacasas y el diseño racional de soportes mesoporosos.

2 ANTECEDENTES DE LOS INTEGRANTES DEL GRUPO POSTULANTE

Completar **para cada uno** de los integrantes de los grupos nacional y extranjero postulantes, comenzando por los coordinadores de los mismos y adjuntar CV de cada uno de los integrantes según formato que se anexa (Se acepta formato CVUy, CvLAC, Cv Lattes o similar)

2.1 RESPONSABLE TÉCNICO DE LA ACTIVIDAD (DIRECTOR):

EN URUGUAY			
NOMBRES Y APELLIDOS PATERNO Y MATERNO	Karen Ovsejevi Gándara		
Documento de identidad (Tipo, N°)	1665199-2	Formación	Doctora en Química
Nacionalidad	Uruguay	Celular	+ 598 99291082
Fecha Nacimiento	18-3-63	Teléfonos	+ 598 27116760
Domicilio Particular	Roque Graseras 703	Código postal	11300
Ciudad / Depto. / Provincia	Montevideo		
Correo electrónico	kovsejev@fq.edu.uy		
LUGAR DE TRABAJO (Institución, Facultad)	Universidad de la República, Facultad de Química.	Sigla	FQ-UdelaR
División o Departamento	Biociencias	Cargo dentro de la Institución	Profesora Agregada de Bioquímica en régimen de dedicación total
Dirección	General Flores 2124	Teléfonos	+ 598 29241806
Código Postal	11800	Fax	+ 598 29241906
Ciudad / Departamento	Montevideo	Página web	https://bioquimica.fq.edu.uy/
Correo electrónico	-----		

EN URUGUAY			
NOMBRES Y APELLIDOS PATERNO Y MATERNO	Larissa Gioia Fabre		
Documento de identidad (Tipo, N°)	4550627-7	Formación	Doctora
Nacionalidad	Uruguay	Celular	+ 598 99548726
Fecha Nacimiento	17-4-83	Teléfonos	+598 99548726
Domicilio Particular	Carlos Berg 2419 Apto 804	Código postal	11300
Ciudad / Depto. / Provincia	Montevideo		
Correo electrónico	gioiafabre@gmail.com		
LUGAR DE TRABAJO (Institución, Facultad)	Universidad de la República, Facultad de Química.	Sigla	FQ-UdelaR
División o Departamento	Biociencias	Cargo dentro de la Institución	Asistente de Bioquímica
Dirección	General Flores 2124	Teléfonos	+ 598 29241806
Código Postal	11800	Fax	+ 598 29241906
Ciudad / Departamento	Mdeo.	Página web	https://bioquimica.fq.edu.uy/
Correo electrónico	-----		

EN ARGENTINA			
NOMBRES, APELLIDOS PATERNO Y MATERNO	Gabriel Orlando Ferrero, Rescala		
Documento de identidad (Tipo, N°)	2886804	Formación	Doctor
Nacionalidad	Argentino	Celular	+ 549 351-3342785
Fecha Nacimiento	04-12-80	Teléfonos	
Domicilio Particular	Ferrer Moratel 75	Código postal	
Ciudad / Depto. / Provincia	Córdoba		
Correo electrónico	gferrero@frc.utn.edu.ar		
LUGAR DE TRABAJO (Institución, Facultad)	Centro de Investigación y Tecnología Química	Sigla	CITeQ-UTN-CONICET
División o Departamento	----	Cargo dentro de la Institución	Investigador del CONICET/Prof. Adjunto UTN-FRC
Dirección	Maestro M. Lopez esq. Cruz Roja Argentina - Ciudad Universitaria	Teléfonos	+ 549 351-4690585
Código Postal	5016	Fax	
Ciudad / Provincia	Córdoba	Página web	
Correo electrónico	citeq@frc.utn.edu.ar		

EN BRASIL			
NOMBRES, APELLIDOS PATERNO Y MATERNO	Sibele Berenice Castellã Pergher		
Documento de identidad (Tipo y N°)	CPF 509426110-04	Formación	Doctora
Nacionalidad	Brasileira	Celular	+55 84 991541881
Fecha Nacimiento	15-3-68	Teléfonos	
Domicilio Particular		Código postal	
Ciudad / Depto. / Provincia	Natal, Provincia Rio Grande do Norte		
Correo electrónico	sibele.pergher@ufrn.br		
LUGAR DE TRABAJO (Institución, Facultad)	Universidade Federal do Rio Grande do Norte	Sigla	UFRN
División o Departamento	Instituto de Química - IQ	Cargo dentro de la Institución	Prof. Associada em regime de dedicação exclusiva
Dirección	Campus Universitário - Lagoa Nova. Av. Salgado Filho 3000	Teléfonos	+55 84 33422323
Código Postal	59078-970	Fax	
Ciudad / Estado	Natal, Provincia Rio Grande do Norte	Página web	www.ufrn.br
Correo electrónico			

2.2 PARTICIPACIÓN DEL DIRECTOR URUGUAYO EN PROYECTOS APROBADOS EN CONVOCATORIAS DE COOPERACIÓN (si corresponde)

País Contraparte	Título del Proyecto	Rol dentro del grupo (*)	Director e Institución Extranjera	Año de inicio	Año Finalización

(*) Rol: Director; Investigador; Estudiante

2.3 INTEGRANTES DEL GRUPO URUGUAYO:

Nombres, apellidos paterno y materno	María del Pilar Menéndez	ROL EN EL PROYECTO (*)	Investigador
Documento de identidad (Tipo y N°)	1500615-4	Domicilio Particular	Fiol de Pereda 1121 bis
Nacionalidad	uruguaya	Código postal	
Fecha Nacimiento	22-2-58	Ciudad / depto.	Montevideo
Formación	Dra.	Teléfonos	+ 598 98617658
Correo electrónico	pilimenendez@gmail.com	Cargo	Profesor Libre
Lugar de Trabajo (Institución, Facultad, Depto.)	Universidad de la República, Facultad de Química. Depto Química Orgánica. Laboratorio de biocatálisis y biotransformaciones. LBB	Teléfonos	+ 598 29244543
Dirección	Gral. Flores 2124	Fax	+5982941906
Código Postal	11800	Página web	--
Ciudad / Depto.	Mdeo.		https://dgo.fq.edu.uy/
Correo electrónico			

Nombres, apellidos paterno y materno	Victoria Giorgi	ROL EN EL PROYECTO (*)	Investigador
Documento de identidad (Tipo y N°)	4838205-8	Domicilio Particular	Sarmiento 2462 apto202
Nacionalidad	uruguaya	Código postal	11300
Fecha Nacimiento	30-4-89	Ciudad / depto.	Montevideo
Formación	Doctora	Teléfonos	+59891053211
Correo electrónico	vgiorgi@fq.edu.uy	Cargo	Prof. Adjunto
Lugar de Trabajo (Institución, Facultad, Depto.)	Universidad de la República, Facultad de Química. Depto Química Orgánica. LBB	Teléfonos	+ 598 29244543
Dirección	Gral. Flores 2124	Fax	+5982941906
Código Postal	11800	Página web	https://dgo.fq.edu.uy/
Ciudad / Depto.	Montevideo		
Correo electrónico	---		

Nombres, apellidos paterno y materno	Valeria Sofía Vázquez	ROL EN EL PROYECTO (*)	Estudiante de posgrado
Documento de identidad (Tipo y N°)	4917024-2	Domicilio Particular	Pestalozzi 3876
Nacionalidad	Uruguay	Código postal	
Fecha Nacimiento	28-6-96	Ciudad / depto.	Montevideo
Formación	Química Farmaceutica. Estudiante de posgrado.	Teléfonos	+59892613876
Correo electrónico	valeria.svazquezp@gmail.com	Cargo	----
Lugar de Trabajo (Institución, Facultad, Depto.)	Universidad de la República, Facultad de Química. Departamento de Biociencias. LBB	Teléfonos	+ 598 29241806
Dirección	General Flores 2124	Fax	+ 598 29241906
Código Postal	11800	Página web	https://bioquimica.fq.edu.uy/
Ciudad / Depto.	Mdeo.		
Correo electrónico	---		

(*) Rol: Investigador; Estudiante, Consultor

Copiar y pegar de ser necesario según el número de investigadores

3 ANTECEDENTES DEL GRUPO NACIONAL POSTULANTE

3.1 PUBLICACIONES CIENTÍFICAS (últimos 5 años)

Lignocellulosic residues from bioethanol production: a novel source of biopolymers for laccase immobilization. Vázquez, V., Giorgi, V., Bonfiglio, F., Menéndez, P., Gioia, L., & Ovsejevi, K. (2023). RSC Advances, 13 (20), 13463–13471. <https://doi.org/10.1039/d3ra01520c>

Pseudozyma sp. isolation from Eucalyptus leaves and its hydrolytic activity over xylan. Botto, E.; Gioia Fabre, L.; Menéndez, P.; Rodríguez, P. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 2019, 21, 1-8. DOI: 10.1016/j.bcab.2019.101282

Microbial transformation of cholesterol: reactions and practical aspects—an update
Giorgi, V.; Menéndez, P. and García Carnelli C. World Journal of Microbiology and Biotechnology (2019) 35: 131 <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2708-8>

Bioprospecting of whole-cell biocatalysts for cholesterol biotransformation. Giorgi, V.; Chaves, M.; Menéndez, P. and García Carnelli C. World Journal of Microbiology and Biotechnology (2019) 35:12 <https://doi.org/10.1007/s11274-018-2586-5>

Biodegradation of acid dyes by an immobilized laccase: an ecotoxicological approach.
Gioia, L.; Ovsejevi, K.; Manta, C.; Menéndez, P. Environmental Science: water research & technology, 2018, 4 (12), 2125 – 2135. DOI: 10.1039/C8EW00595H (Arbitrada)

Thiol-Cyclodextrin: A New Agent For Controlling The Catalytic Activity Of Polyphenol Oxidase From Red Delicious Apple. Peralta-Altier, G.; Manta, C.; Ovsejevi, K. SDRP Journal of Food Science & Technology. 2018, 3 (2), 1-11. DOI: 10.25177/JFST.

3.2 DESARROLLO DE NUEVOS CONOCIMIENTOS Y TECNOLOGÍAS (últimos 5 años)

- **Desarrollo de biocatalizadores insolubles en base a oxido-reductasas.** Trabajo basado en el empleo de lacasas producidas por cepas aisladas en plantaciones de *Eucalyptus globulus* en Uruguay. Estas enzimas inmovilizadas en soportes tiol-reactivos presentaron gran capacidad para bio-transformar colorantes sintéticos utilizados en la industria textil, siendo una valiosa herramienta para el diseño de procesos continuos para el tratamiento de efluentes industriales y naturales.
- **Valorización de residuos lignocelulósicos para el diseño de procesos en fase sólida.** Este trabajo también se focaliza en el desarrollo de biocatalizadores en fase sólida en base a oxidorreductasas para la reducción de la contaminación en efluentes industriales y naturales. En este caso, se busca generar variadas aplicaciones de los biopolímeros extraídos de materiales lignocelulósicos (residuos forestales y residuos generados durante de la síntesis de bioetanol de segunda generación) con Líquidos Iónicos (LI). Dado que emplear estos materiales tiene varias ventajas: su bajo precio, su amplia distribución, son un recurso renovable y biodegradable. La re-estructuración de los materiales lignocelulósicos extraídos con LI por precipitación en medio acuoso, genera un hidrogel con regiones hidrofílicas e hidrofóbicas capaces tanto de interactuar con biomoléculas (ej. enzimas) como de ser químicamente modificadas para generar nuevas estructuras. Esto permitirá su uso en diferentes procesos en fase sólida, como por ejemplo, activarlos, incorporándoles grupos reactivos en su superficie y utilizarlos como soportes de bajo costo para la inmovilización de enzimas capaces de biotransformar contaminantes recalcitrantes, ó su uso directo como adsorbentes de contaminantes en agua.
- **Síntesis y aplicaciones de ciclodextrinas (CDs).** En este caso se buscó el control del "pardeamiento enzimático", proceso oxidativo que afecta la conservación de alimentos, mediante el uso de CDs modificadas (libres o acomplexadas con vitaminas). Se logró producir CDs a partir de almidón y ciclodextringlicosil-transferasa inmovilizada en forma covalente reversible. Asimismo, se desarrolló en medio acuoso una CD con grupos tiol (Tiol-CD), lo cual fue un hito, ya que los métodos de síntesis tradicionales se alejan de la "Química verde". Esta Tiol-CD posee gran capacidad reductora, no es tóxica y podría utilizarse en las áreas alimentaria, farmacéutica y cosmética. En particular, resulta un excelente agente anti-pardeamiento, tanto libre como acomplexada con Vitaminas.

3.3 DIFUSIÓN DE CONOCIMIENTOS Y TRANSFERENCIA DE TECNOLOGÍAS (últimos 5 años)

Describir las actividades de difusión de conocimientos generados y de transferencia de tecnología

Disertaciones en eventos:

Laccases as a tool for bio-transforming emerging contaminants in water, K. Ovsejevi (Conferencista invitado). Webinar: Biorremediation: Revealing power of Nature through cutting-edge scientific and technological strategies. Fundación Biociencia, Santiago de Chile, Chile, 1de agosto, 2023.

La inmovilización de enzimas como herramienta para potenciar el uso de biocatalizadores en Biotecnología. K. Ovsejevi (Conferencista invitado). V Encuentro & II Workshop de la Red Argentina de Tecnología Enzimática (Red TEz), Rosario, Santa Fe, Argentina, 2023.

Biodegradación de contaminantes estrogénicos mediante lacasa de *Trametes villosa* inmovilizada en biopolímeros lignocelulósicos. Gioia L., Vázquez V., Giorgi V., Bonfiglio F., Menéndez P., Ovsejevi K. IV Silabyb, Chile, 2022.

Degradación de colorantes sintéticos con lacasas fúngicas obtenidas por fermentación en estado semi-sólido. Gioia, L.; Ovsejevi, K.; Manta, C.; Menéndez, P. III Simposio Latinoamericano de Biocatálisis y Biotransformaciones (SiLaByB), VIII Encuentro Regional de Biocatálisis y Biotransformaciones (EnReBB), San Luis, Argentina, 2018.

Presentaciones en eventos

Empleo de residuos lignocelulósicos como fuente de biopolímeros para la inmovilización de lacasa de *Dichostereum sordulentum*: una alternativa para biodegradar sustancias hormonalmente activas. Vázquez,V.; Bonfiglio, F.; Botto,E.; Reina, L.; Gioia,L.; Menendez, P.; Ovsejevi, K. IV Encuentro Nacional de Química, ENAQUI7, 3-5 de noviembre, 2021. Torre de las Comunicaciones, Montevideo, Uruguay. Congreso nacional, bienal, arbitrado.

Desarrollo de un proceso enzimático para la remoción del contaminante etinilestradiol Acuña, S.; Botto, E.; Menendez, P.; Ovsejevi, K.; Gioia, L. ENAQUI6, 16-18 de octubre, 2019. Torre de las Comunicaciones, Montevideo, Uruguay. Congreso nacional, bienal, arbitrado. e-Póster.

Evaluación ecotoxicológica del tratamiento enzimático de colorantes azoicos con lacasa inmovilizada. Gioia, L.; Manta, C.; Ovsejevi, K.; Menendez, P.; Míguez D. Comunicación oral en Jornada de presentación de resultados del Programa Aguas I (2014-2018) y Lanzamiento del Programa Aguas II (2018-2021) de Latitud - Fundación LATU, 2018

Curso posgrado CABBIO

Biotransformaciones aplicadas a procesos biotecnológicos (2021)
L. Gioia, P. Rodríguez , V. Giorgi , M.A. Vila. Laboratorio de Biocatálisis y Biotransformaciones
Facultad de Química – UdelAR. Montevideo, Uruguay (modalidad virtual sincrónico). Duración: 2 semanas

Cursos de grado

- "Degradación de contaminantes xenobióticos mediante un proceso enzimático", Larissa Gioia. Clase práctica dictada en curso electivo "Laboratorio de Síntesis orgánica mediante transformaciones Enzimáticas" (2022), Facultad de Química, UdelAR.

- "Valorización de residuos y Química Verde" Dra. María del Pilar Menéndez, Dra. Larissa Gioia, MSc. Emiliana Botto. Clase teórica dictada en curso electivo "Química Verde" (2020), Facultad de Química, UdelAR.

ANTECEDENTES DE COOPERACIÓN PREVIA CON LAS INSTITUCIONES EXTRANJERAS

Describir, si existen, los antecedentes de cooperación previa entre las instituciones participantes.

El proyecto presentado será desarrollado por tres grupos de investigación: el Instituto de Química de la Universidad Federal de Rio Grande do Norte (Brasil), liderado por la Dra. Sibeles Pergher; la Facultad de Química de la Universidad de la República (Uruguay), liderado por la Dra. Karen Ovsejevi y el Centro de Investigación en Tecnología Química (CITEQ) de la Facultad Regional Córdoba de la Universidad Tecnológica Nacional (Argentina), liderado por el Dr. Gabriel Ferrero. En lo que se refiere a antecedentes de cooperación entre los grupos, desde el 2019 el CITEQ mantiene contacto con el Instituto de Química de la Universidad Federal de Rio Grande do Norte. La interacción institucional surgió a partir de la invitación de la Dra. Mónica Crivello (Directora del CITEQ) al "7th Cycle of Lectures on Molecular Sieves" en Natal, Brazil por la Dra. Sibeles Pergher. A partir de allí, el Dr. Ferrero, investigador del CITEQ, comenzó a relacionarse con la Dra. Pergher. Mientras que, el contacto entre el Dr. Ferrero y el grupo liderado por la Dra. Ovsejevi surgió en el congreso RedTez organizado en Rosario, Santa Fe, Argentina en mayo del 2023 donde ambos asistieron. Allí la Dra. Ovsejevi brindó una conferencia donde mostraba la inmovilización de enzimas utilizando enlaces covalente reversibles sobre distintos soportes. Esto dio origen a la idea de realizar este tipo de inmovilizaciones sobre los silanoles de los materiales mesoporosos con los que trabaja el Dr. Ferrero para inmovilizar enzimas. Para confeccionar este proyecto interdisciplinario hemos realizado reuniones virtuales periódicas, donde se expusieron los diferentes puntos de vista, siempre aportando desde la experticia de cada grupo. La buena predisposición para el trabajo en equipo junto con la trayectoria de los grupos mencionados, aseguran la posibilidad de llevar adelante este proyecto con un enfoque multidisciplinario, logrando además un enriquecimiento académico.

Como ocurre en la mayoría de los casos las cooperaciones científicas comienzan de manera informal, sin un marco formal donde desarrollarse, por lo tanto consideramos que la convocatoria 2023 del CENTRO LATINOAMERICANO DE BIOTECNOLOGÍA es una excelente oportunidad para afrontar el desafío propuesto en equipo, afianzar los lazos de cooperación internacional y enfrentar el problema de los contaminantes emergentes que afecta a los tres países involucrados.

El grupo Argentino del Centro de Investigación en Tecnología y Química (CITEQ-UTN-CONICET) tiene una vasta experiencia en el desarrollo de materiales mesoporosos de silicio puro o modificados con metales. La actividad de los materiales ha sido evaluada en diferentes aplicaciones catalíticas tales como producción de caprolactama, monómero del nylon 6, oxidación de distintas olefinas para la obtención de intermediarios para la industria farmacéutica, cosmética y fragancias, degradación de colorantes provenientes de industrias textiles mediante fotocatalisis heterogénea, entre otras [1–4]. En relación a esta tecnología, la Dra. Elías y el Dr. Ochoa-Rodríguez han alcanzado resultados muy prometedores en cuanto al desarrollado de catalizadores sumamente eficientes para la degradación de compuestos orgánicos como colorantes y fármacos [5, 6].

En lo que se refiere a los antecedentes en inmovilización enzimática, el Dr. Ferrero del CITEQ-UTN-CONICET ha logrado inmovilizar la enzima lipasa de *Pseudomonas fluorescens*, en la estructura ordenada de los materiales SBA-15 para obtener los biocatalizadores LPF/Ca/SBA-15 y LPF/Na/SBA-15. Estos materiales fueron utilizados para la producción de biodiesel a partir de diversas fuentes de aceites y etanol comercial. La optimización de la actividad del catalizador enzimático heterogéneo respecto al contenido de enzima por gramo de material, respecto al contenido de agua y/o ácidos grasos libres, los diferentes sustratos y tiempos de reacción, junto con la caracterización estructural y fisicoquímica, figuran en los siguientes trabajos publicados:

- G.O. Ferrero, E.M. Sánchez Faba and G.A. Eimer. *ChemistrySelect*. (2023), doi.org/10.1002/slct.202203962
- C.G. Prucca, S. Fracchia, G.A. Eimer and G.O. Ferrero. *Industrial Crops & Products*. (2023), doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.115983
- Ferrero G.O., Sánchez Faba E.M., Eimer G.A. *Biotechnology for Biofuels*. (2021), doi.org/10.1186/s13068-021-01917-x
- Ferrero G.O., Sánchez Faba E.M., Rickert A.A., Eimer G.A. *Renewable Energy*. (2019), doi.org/10.1016/j.renene.2019.12.114
- Ferrero G.O., Sánchez-Faba E.M., Eimer G.A. *Chemical Engineering Journal*. (2018), doi.org/10.1016/j.cej.2018.05.048

Actualmente, ha sumado dos líneas de investigación que son los temas de tesis de sus dos doctorandos (mencionados en los integrantes del proyecto) en formación:

- 1- Diseño de una cascada quimio-enzimática heterogénea impulsada por luz para la oxidación de materia orgánica
- 2- Síntesis de sílicas mesoporosas a partir de glicerol residual para el desarrollo de catalizadores heterogéneos enzimáticos y su aplicación en reacciones de esterificación de interés en química fina.

El CITeQ cuenta con una superficie de 400 m², que incluye 4 laboratorios con el equipamiento básico para la síntesis de materiales y evaluación (líneas de N₂, aire y gases especiales), 1 sala de instrumental, 1 sala de equipamiento auxiliar (heladeras, muflas, balanzas, destilador, evaporador, centrífuga), 1 taller de vidrio, mecánica y electrónica, biblioteca/aula/sala de reuniones, 4 oficinas, 1 local de uso común, 1 Laboratorio de Servicios y equipamiento de Cómputos.

Entre los equipos más importantes para aportar al desarrollo de este plan el CITeQ cuenta con:

- Reactores de acero inoxidable a alta presión de 25 y 100 mL Berghof (BR-25, BR-100), con control de agitación y de la temperatura.
- Espectrómetro UV-visible Jasco 7800 y UV-visible Jasco 650 con esfera integradora ISV-722.
- Espectrómetro FT-IR Thermo Scientific Nicolet iS10, líneas de vacío especiales con bombas de alto vacío y celdas para IR adecuadas para adsorber moléculas sonda para su posterior análisis por FT-IR.
- Equipo Pulse Chemisorb (Micromeritics 2720).
- Equipo Karl Fisher (Metrohm)
- Ultrasonido de baño (Test Lab)
- Analizador de Carbono Orgánico Total SHIMADSU TOC-5000/5050.
- Cromatógrafo Gaseoso Agilent 7820 con 2 detectores FID.
- Cromatógrafo Gaseoso Perkin Elmer Modelo Clarus 500 con Detector FID y CD.
- Cromatógrafo Gaseoso Hewlett-Packard 5890 Serie II PLUS con detectores FID-CT.
- Cromatógrafo Líquido Iónico Thermo Scientific - ICS-1100 Dionex.
- Cromatógrafo líquido de alta presión HPLC-Jasco PU-980.
- Cromatógrafo líquido de alta presión HPLC-Perkin Elmer.

Consultar <http://www.investigacion.frc.utn.edu.ar/citeq> para más información.

. El Laboratorio de Tamices Moleculares de la Universidade Federal do Rio Grande do Norte de Brasil tiene como misión ofrecer soluciones de I, D&I en actividades directamente relacionadas con el uso de tamices moleculares en procesos de separación, adsorción y catálisis para diversos sectores de actividades económicas, particularmente para las industrias de Petróleo, Gas, Energía y Medio Ambiente. En el mismo, el grupo liderado por la Dra. Sibeles Pergher desarrolla su investigación en: síntesis de catalizadores, zeolitas, arcillas, materiales mesoporosos, materiales laminares, pilarizados y delaminados, procesos de adsorción y catálisis. La Dra. Pergher es investigadora 1D del CNPq, posee más de 180 artículos publicados, 20 patentes y 500 ponencias en congresos. Actualmente el Laboratorio dispone de una buena infraestructura para la síntesis y caracterización de tamices moleculares, así como para pruebas catalíticas para reacciones modelo. El equipo LABPEMOL cuenta con: Bench DRX de Bruker (D2 PHASER), 03 ASAP 2020M plus de Micromeritics (dos para N₂ y oro para Ar), Porosímetro de Hg de Micromeritics, ASAP 2050 HP (para CO₂), FRX de mesa de Bruker (S2RANGER), UV-Vis, 03 Cromatógrafos de gases (FID y TCD), Análisis Térmico – TG de Netzsch, Liofilizador, Bola Planetaria Cromatógrafo Mill y GC-MS, Microscopio electrónico de barrido (Mira-Tescan), Microactividad (Micromeritics), Analizador de partículas PSA 1090L (Anton Paar), Quimisorción (Micromeritics), Nova 800 (Anton Paar) entre otros. Además, cuenta con un equipo de 3 profesores, 3 investigadores externos y más de 30 estudiantes, entre iniciación científica, maestría, doctorado y posdoctorado.

. El grupo Uruguayo, se destaca por sus conocimientos en enzimología, la expresión, purificación, modificaciones químicas e inmovilización de enzimas. Además, varios de sus miembros pertenecen al grupo original (dirigido por el Prof. Francisco Batista-Viera, hoy retirado de la academia) que desarrolló el método de inmovilización covalente reversible utilizando matrices hidroxiladas derivatizadas con grupos tiol-reactivos como soporte de inmovilización.

La Dras. Karen Ovsejevi y Larissa Gioia son las responsables del proyecto en Uruguay, ambas pertenecen al Área Bioquímica del Departamento de Biociencias de la Facultad de Química, Udelar.

La Dra. Ovsejevi desempeña su trabajo en el área de la enzimología, con vasta experiencia en el aislamiento, purificación, inmovilización y aplicaciones biotecnológicas de las enzimas. Ha co-dirigido y dirigido varios proyectos de investigación focalizados en el desarrollo de biocatalizadores insolubles para su uso en la resolución de problemas vinculados a la salud, a la conservación de alimentos y la contaminación ambiental. Para

estas actividades ha obtenido varias financiaciones y realizado numerosas publicaciones. En particular, fue co-responsable con la Dra. Pilar Menéndez del proyecto FCE-1_2019_1_156567 "Desarrollo de biocatalizadores inmovilizados en biopolímeros lignocelulósicos: una nueva herramienta para reducir la contaminación causada por compuestos estrogénicos", culminado el 30-11-22 (financiado por la Agencia Nacional de Investigación e Innovación, ANII). En el mismo se estudió la inmovilización por entrapamiento de la enzima lacasa en material lignocelulósico obtenido del tratamiento de corteza de Eucalyptus con líquidos iónicos y la degradación del compuesto etinilestradiol.

La Dra. Gioia realizó su Tesis de Doctorado en Química "Producción, caracterización e inmovilización de lacasas para uso en Biotransformación y Biorremediación" bajo la dirección de las Dras. Karen Ovsejevi, Carmen Manta y Pilar Menéndez. Durante el desarrollo de la misma adquirió amplia experiencia en técnicas de producción, purificación, caracterización e inmovilización de lacasas fúngicas y en la realización de estudios de degradación de compuestos recalcitrantes (colorantes sintéticos) y ensayos biológicos. Ha participado como integrante del equipo de varios proyectos ya finalizados, en particular en el FCE-1_2019_1_156567 (anteriormente mencionado). La Dra. Gioia junto a la Dra. Ovsejevi dirigen la tesis de Maestría de la estudiante Valeria Vázquez, también integrante del equipo de la presente propuesta, en el tema: "Desarrollo de hidrogeles en base a lacasa fúngica y biopolímeros lignocelulósicos con potencial actividad para el tratamiento de residuos estrogénicos".

La Dra. Pilar Menéndez, pertenece al laboratorio de Biotransformación y Biotransformaciones (LBB) de la Facultad de Química, ha trabajado durante varios años en el área de las biotransformaciones utilizando diversos biocatalizadores, enfocándose en la valorización de diferentes residuos industriales. En particular durante la ejecución de varios proyectos de los cuales fue responsable, adquirió gran experiencia en la producción de lacasas a partir de distintos basidiomicetes aislados en Uruguay. Asimismo, posee vasta experiencia en técnicas analíticas cromatográficas, fundamentales para el monitoreo del proceso de degradación de los compuestos estrogénicos.

La Dra. Victoria Giorgi, ha trabajado activamente en proyectos dirigidos por la Dra. Menéndez, especialmente en el FCE-1_2019_1_156567, participando en la producción e inmovilización de lacasa de *Dichostereum sordulentum*, el análisis de su capacidad para biotransformar estrógenos y la elucidación estructural de los productos obtenidos.

Para desarrollar el plan de trabajo se dispone de la infraestructura e equipamiento de los laboratorios del Área Bioquímica y del LBB de la Facultad de Química. Tres laboratorios de 120 m² con instalaciones de agua, luz, aire acondicionado, campana de gases y teléfono, área adicional para tareas administrativas de 30 m². Estos se complementan y permiten acceder a toda la infraestructura necesaria para su realización. En Bioquímica se cuenta con los materiales necesarios para trabajar con enzimas y particularmente en su inmovilización: columnas, equipo de electroforesis Mini-Protein, espectrofotómetro Shimadzu 1800 (con sistemas de agitación y termostatación), lector de placas Elisa, sonicador, HPLC Waters-R401, Espectrofluorímetro TEKAN, AKTA purifier, baños de agua termostatizados, liofilizador LCJ-12, bombas peristálticas, SPEED VAC SPD1010 Thermo Scientific Modelo Savant. El LBB cuenta con mesada especial para trabajar con hongos, flujo laminar, autoclave, estufas para incubación, agitadores orbitales, medios de cultivo, rotavapor, liofilizador, HPLC con detector de arreglo de diodos (DAD) y RID, lámpara UV para análisis de TLC.

Ambos laboratorios cuentan con centrifugas refrigeradas, agitadores magnéticos, balanzas, refrigeradores, campana de gases, material de vidrio, destilador de agua, así como con un espacio destinado a tareas administrativas.

4 ANTECEDENTES FINANCIEROS DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Explicitar fuentes de financiamiento del proyecto (nacionales, internacionales o de otras instituciones)

FUENTE DE FINANCIAMIENTO	Monto	Nº de Proyecto	Año de inicio	Año de término

OBSERVACIONES:

5 ACTIVIDADES A FINANCIAR

5.1 ANTECEDENTES DEL PROYECTO

Los medicamentos son considerados contaminantes ambientales “emergentes”, ya que hasta hace poco tiempo no existían técnicas analíticas para su detección y por no contar con una regulación específica sobre su descarte [7].

Los efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales son considerados como fuentes principales de la contaminación por fármacos, pues al metabolizarse un medicamento un porcentaje de éste se elimina por la orina o por las heces (como metabolito o en su forma activa). Diferentes estudios demuestran que en estos efluentes se detecta la presencia de productos farmacéuticos y metabolitos, los cuales reingresan al medio ambiente, pero bajo la forma de contaminantes [8–12]. Esta contaminación puede darse en el suelo, aguas superficiales, aguas subterráneas, sedimentos y biota.

La Comisión Europea seleccionó entre los contaminantes farmacéuticos más peligrosos a los estrógenos 17beta-estradiol (E2) y al 17alfa-etinilestradiol (EE2) [13]. El efecto de las sustancias hormonalmente activas sobre el medio ambiente y los seres humanos es muy complejo. En los seres humanos pueden ocasionar reducción de la fertilidad, cáncer de mama, cáncer de próstata [14] y en animales acuáticos pueden dar lugar a la feminización de los machos y el hermafroditismo. Esta feminización se ha relacionado con la presencia de sustancias tales como el estrógeno natural E2 y el estrógeno sintético EE2. El uso de estrógenos sintéticos en lugar de estrógenos naturales en los anticonceptivos hormonales, potencia estos efectos al degradarse más lentamente que la hormona natural, permaneciendo más tiempo en el agua [15–17].

Según datos suministrados por las Naciones Unidas, en al menos uno de cada cuatro países se utilizan anticonceptivos hormonales y se proyecta que cerca de 800 millones de mujeres utilizarán algún método de anticoncepción en el año 2030 y entre los tres más demandados están aquellos que emplean hormonas [18]. En Argentina, Uruguay y Brasil el principal método de anticoncepción lo constituye los anticonceptivos orales [19]. Este alto consumo de hormonas contribuirá a generar una mayor contaminación de las reservas acuíferas en la región. Actualmente, el problema ya existe y prueba de ello es la presencia de disruptores endocrinos en recursos acuáticos de Uruguay (Río Uruguay[20] y en la cuenca del Río Santa Lucía[21]), Brasil (en aguas superficiales y en agua potable, en distintos estados como Mato Grosso del sur [22, 23], San Pablo [24] y Río de Janeiro [25] y Argentina (ríos de diferentes Provincias, entre ellas Buenos Aires [26], Córdoba[27], San Luis y también en agua de la canilla [28, 29]).

En resumen, los contaminantes emergentes pueden tener un impacto significativo en la salud, el medio ambiente y la economía de Brasil, Uruguay y Argentina. La magnitud de estos impactos variará según la naturaleza y la concentración de los contaminantes, así como la capacidad de cada país para abordar estos problemas a través de regulaciones y acciones de mitigación.

Las enzimas son catalizadores eficientes y amigables con el medio ambiente extensamente utilizados en procesos biotecnológicos. Entre las enzimas con mayor campo de aplicaciones se destacan las lacasas [30], dado que su baja especificidad les permite actuar sobre un amplio rango de sustratos, pudiendo incluso oxidar compuestos complejos empleando mediadores en la transferencia electrónica [31–36]. En especial, las lacasas de origen fúngico han demostrado poder degradar disruptores endocrinos, entre ellos, estrógenos naturales (estrone; 17-beta-estradiol; estriol) y estrógeno sintético (17-alfa-etinilestradiol) [37–40].

Sin embargo, su aplicación a nivel industrial, está limitada por su inestabilidad en forma soluble y su difícil recuperación para usos posteriores [41]. La inmovilización enzimática es la estrategia más utilizada para superar estas desventajas y por ello, han sido inmovilizadas por muy variados métodos y sobre diferentes matrices [41, 42, 51–57, 43–50] e incluso aplicadas en forma insoluble para biotransformar estrógenos [58, 59].

En el presente proyecto se ha seleccionado el método de inmovilización covalente reversible, por formación de enlaces disulfuro entre la enzima y el soporte activado con grupos tiol-reactivos (tiolsulfinato ó tiolsulfonato), que permite no sólo el reuso de la enzima y el diseño de procesos continuos, sino también la recuperación del soporte (por reducción del puente disulfuro formado) una vez que el biocatalizador inmovilizado pierde su actividad [54, 60] (Figura 1). Esto resulta relevante, ya que en muchos casos el costo del soporte suele ser un impedimento al momento de escalar el proceso de inmovilización.

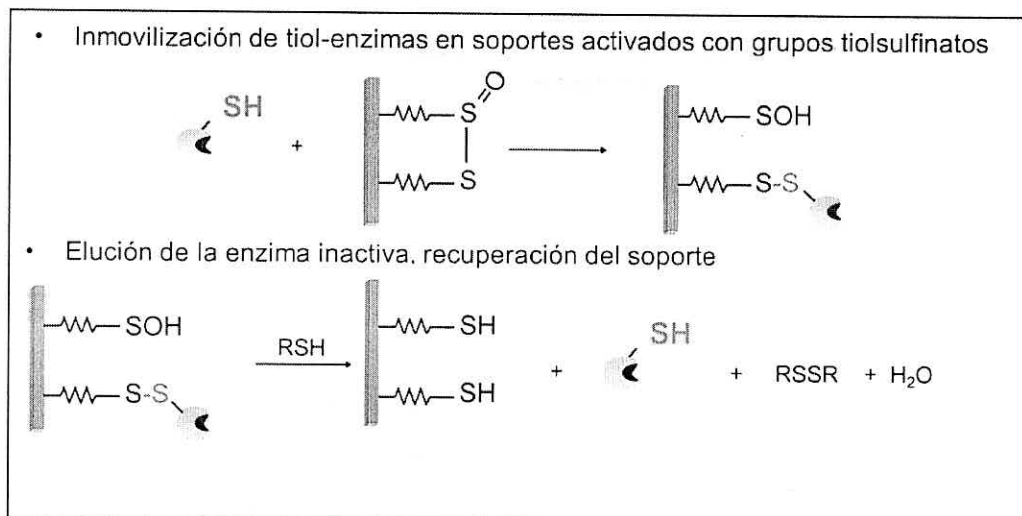


Figura 1 - Inmovilización covalente reversible de enzimas.

Si bien las lacasas han sido inmovilizadas por otros métodos, en muchos casos, el bajo rendimiento obtenido se puede explicar por el uso de un pH elevado durante la etapa de acoplamiento, así como por cambios en la conformación de la enzima generados por uniones multi-puntuales al soporte, involucrando numerosos grupos amino superficiales de la proteína. La inmovilización covalente suele seleccionarse para aumentar la estabilidad tanto térmica como operativa. Los principales inconvenientes asociados a la inmovilización covalente irreversible pueden deberse a cambios en la conformación de la lacasa con pérdida de actividad y a la imposibilidad de reutilizar el soporte después de que la enzima inmovilizada se vuelva inactiva con el reuso [61]. Así, la inmovilización covalente reversible de lacasas resulta una alternativa para superar estos problemas, reduciendo la tensión de la estructura nativa inmovilizada, ya que sólo participan los grupos SH expuestos (con baja presencia en proteínas nativas), permitiendo además, la reutilización del soporte.

Como se aprecia en la Figura 1, para que una enzima pueda inmovilizarse en forma covalente reversible a un soporte tiol-reactivo, se requiere la presencia de grupos SH expuestos, por ello el número de estos grupos en la proteína es una limitante al momento de inmovilizar. Las enzimas nativas pueden no poseer grupos tiol o los mismos no estar expuestos, impidiendo la inmovilización por puentes disulfuro con el soporte. Tal es el caso de las lacasas de hongos, las cuales poseen un grupo cisteína en su sitio activo y otros suelen estar formando disulfuros [62].

Sin embargo, para superar este inconveniente es posible realizar la tiolación de la enzima, incorporándole grupos tiol "de novo". Si bien esta técnica implica utilizar grupos amino de la superficie y transformarlos en grupos tiol, el grado de tiolación puede regularse por las condiciones de reacción, permitiendo así optimizar el rendimiento de inmovilización. Por lo tanto, una importante ventaja de este método reside en que es aplicable a cualquier proteína, sin ser imprescindible que presente grupos tiol en su estructura nativa.

Este método fue aplicado con éxito por el grupo de investigación uruguayo a la inmovilización covalente reversible de la lacasa del basidiomicete *Trametes villosa* (TV) utilizando el soporte tiol-reactivo tiolsulfonato-agarosa (TSI-agarosa) como soporte, alcanzando un elevado rendimiento de inmovilización (95%) [53]. Asimismo, se ha realizado la inmovilización por entrapamiento en biopolímeros naturales de lacasa de *Dichostereum sordulentum*. Habiéndose demostrado la probada capacidad de ambas lacasas para la degradación de estrógenos [59]. Además, otra lacasa será utilizada en el proyecto, la de *Pycnoporus sanguineus*, la cual es muy reactiva frente a compuestos recalcitrantes [63].

Si bien por las ventajas ya mencionadas, el método de inmovilización de preferencia será el covalente reversible, en el caso de que esta metodología no genere biocatalizadores insolubles activos, se tendrá como opción la de la adsorción al soporte mesoporoso.

En este proyecto se plantea desarrollar nuevos materiales mesoporosos en base a silicio, modificados (por inclusión de metales) y/o funcionalizados con grupos tiol-reactivos para obtener un nuevo soporte para la inmovilización de lacasas fúngicas [64].

Los materiales porosos han sido foco de estudios para aplicaciones tecnológicas y catalíticas. Según la IUPAC [65], estos materiales se dividen en tres clases: macroporosos (poros mayores de 50 nm), mesoporosos (poros entre 2 y 50 nm) y microporosos (poros menores de 2 nm). El término "nanoporoso" abarca las tres categorías de poros, pero no puede exceder el límite de 100 nm. También pueden incluirse los ultramicroporos (menores de 0,7 nm). Dentro del grupo de los materiales microporosos, los más conocidos son las zeolitas, las cuales poseen una distribución de poro uniforme y un sistema de poros bien definido [66]. Las ventajas presentadas por las zeolitas para su uso en catálisis ácida o redox se vieron opacadas, debido a su estructura y tamaño de poro. Estas presentan una limitación cuando moléculas grandes están involucradas en la reacción, especialmente cuando se trata de sistemas en fase líquida. Esto, dio origen a una importante línea de investigación en la síntesis de catalizadores con mesoporos [66–68]. La primera síntesis de materiales mesoporosos descrita en la literatura fue en el año 1971 [69]. Luego, en 1992 científicos de la Mobil oil Corporation desarrollaron y caracterizaron nuevas sílices mesoporosas como la MCM-41 (sílice con canales unidimensionales) y la MCM-48 (sílice con canales tridimensionales) abriendo el camino para la investigación en este tipo de materiales [70]. En el año 1998 en la Universidad de Santa Bárbara, California un grupo de investigadores liderados por el investigador Zhao [68], realizaron un nuevo descubrimiento en la síntesis de materiales porosos con alto diámetro de poros al utilizar el polímero no iónico P123 (PPO-PEO), a esos materiales se los denominó SBA (Santa Barbara Amorphous). La Figura 2 ilustra la estructura porosa del material SBA-15 antes y después de la calcinación. También se puede observar en la Figura 2 la formación de micro y mesoporos con el uso del polímero P123 y cómo queda la estructura de ese material después de la calcinación y remoción del compuesto orgánico.

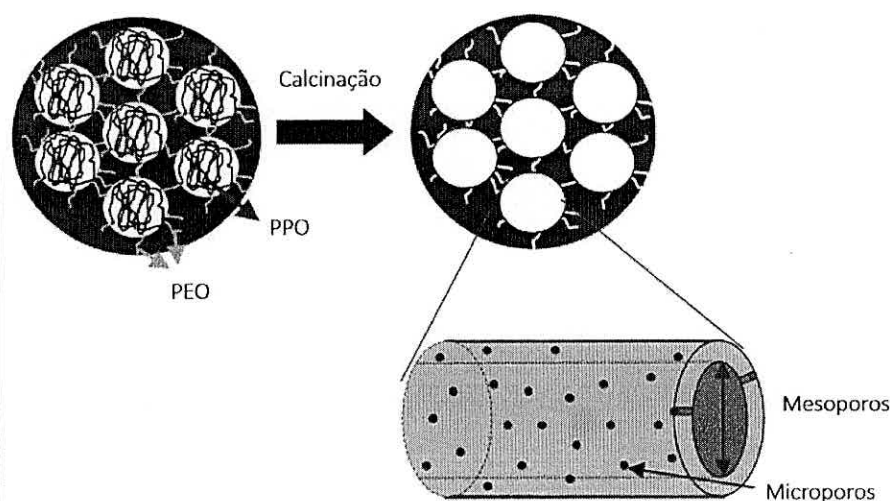
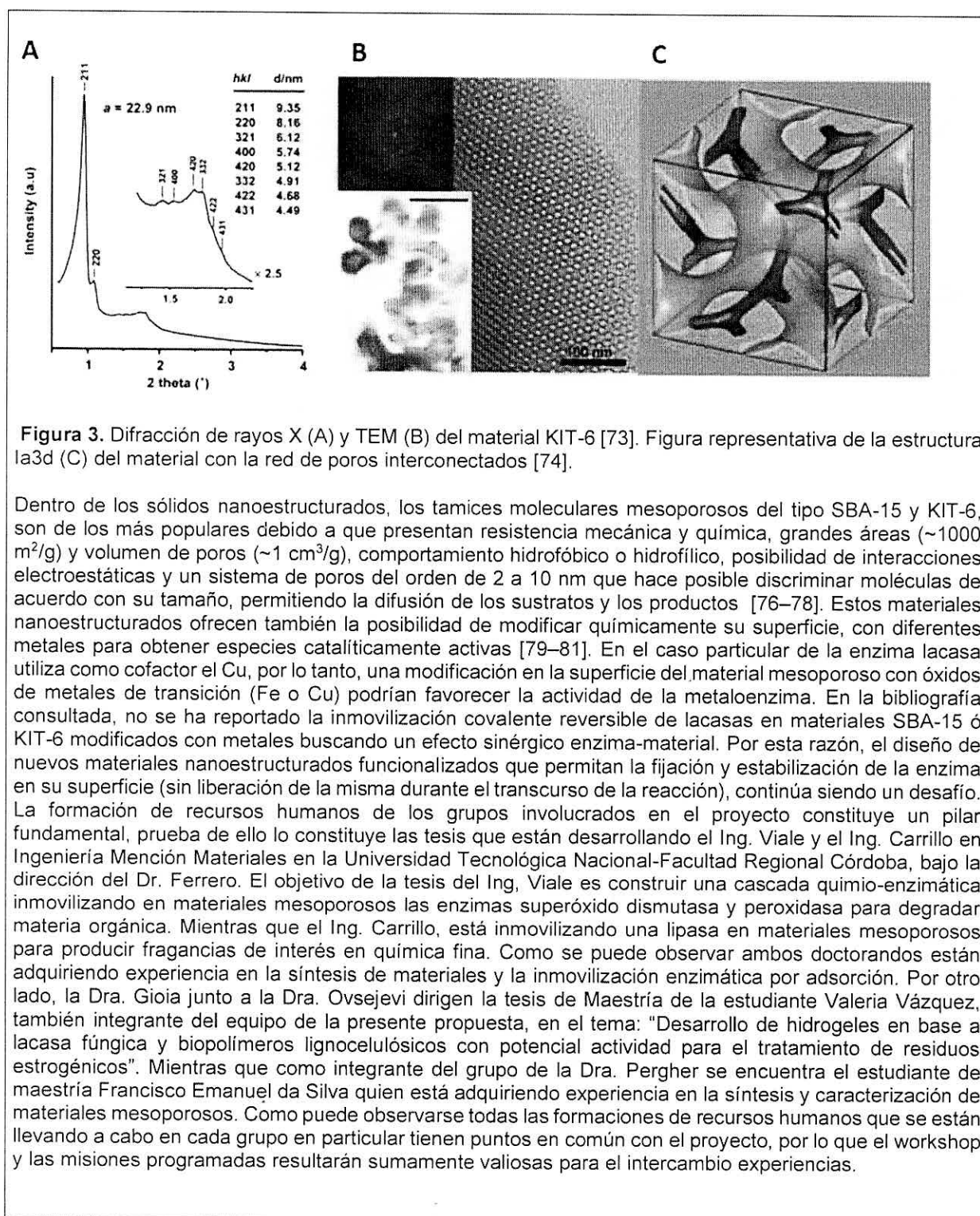


Figura 2. Ilustración de la estructura de la SBA-15 con el polímero P123 formando los micro y mesoporos y la estructura final de poros del material después de la calcinación [71].

Utilizando el mismo copolímero, Pluronic P123, se puede obtener otro material, denominado KIT-6. Así como SBA-15 es un homólogo de MCM-41, KIT-6 es un homólogo de MCM-48. Obtenido en baja concentración de ácido y utilizando butanol como codirector de la estructura [72], este material se obtuvo por primera vez en 2003 [73]. Esta nueva estructura consta de dos redes de poros interconectados, similar a MCM-48, pero con un tamaño de poro promedio mucho mayor [74], siendo su síntesis más sencilla. De hecho, la red tridimensional de poros interconectados y abiertos facilita el acceso directo a las especies soportadas en KIT-6, logrando una difusión eficiente de los reactivos y productos sin bloquear los poros [75]. La Figura 3 presenta las imágenes de difractograma de rayos X y microscopía de transmisión, además de la imagen representativa de su estructura 3D con una red de poros interconectados.



5.2 OBJETIVOS DEL PROYECTO.**OBJETIVO GENERAL:**

Obtención de biocatalizadores insolubles en base a lacasa fúngica inmovilizada en materiales mesoporosos para la degradación de contaminantes estrogénicos en aguas.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

OE1-Diseño, preparación y caracterización fisicoquímica de nanomateriales mesoporosos modificados. Optimización de las condiciones de síntesis de estos materiales inorgánicos en función de las propiedades requeridas.

OE2- Desarrollo de biocatalizadores insolubles activos de lacasa fúngica por inmovilización covalente reversible ó por adsorción en soportes mesoporosos.

OE3- Biodegradación de estrógenos empleando los biocatalizadores insolubles obtenidos.

OE4- Divulgar los resultados en congresos y revistas científicas nacionales e internacionales y/o transferirlos al medio socio-productivo.

5.3 METODOLOGÍA. PLAN DE TRABAJO. PRINCIPALES REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Para llevar adelante el OE1 se requerirán las siguientes actividades:

i- Síntesis de tamices moleculares mesoporosos del tipo SBA-15 y KIT-6

La síntesis de los soportes mesoestructurados del tipo SBA-15 será realizada ajustando algunos parámetros según la publicación de Zhao y colaboradores [68]. Los reactivos empleados serán silicato de tetraortoetilo (TEOS) como fuente de silicio, el copolímero tribloque no iónico Pluronic 123 (P123, PM = 5800 g/mol) como agente moldeante y el ácido clorhídrico (HCl) 37 %p/p para la hidrólisis del TEOS y el ajuste del pH. La composición molar del gel de síntesis corresponde a las siguientes proporciones: 1 SiO₂: 0,017 P123: 5,9 HCl: 193 H₂O.

Para realizar la síntesis, inicialmente se disolverá P123 en una disolución acuosa de HCl 2M en un baño a 35°C, durante 2h. A continuación, se agregará el TEOS y la solución resultante será agitada durante 20h a 35°C. Posteriormente, la mezcla resultante será transferida a autoclaves y sometida al procedimiento de un tratamiento hidrotérmico estático a temperatura de 100°C durante 48h. Transcurrido ese tiempo, el material formado será filtrado y lavado con agua destilada y secado a 100°C durante 12h. Para finalizar, el material será calcinado para eliminar el material orgánico contenido en el mismo, empleando un flujo de aire a una temperatura de 600°C durante 5h (rampa térmica de 2°C/min).

El material KIT-6 se sintetizará en condiciones ácidas, utilizando una mezcla del copolímero Pluronic 123 y n-butanol [72]. En esta síntesis, TEOS, 6g de P123 se disolverán en 217g de agua destilada y 11,8g de HCl (35 wt%). Tras la disolución total del copolímero, se añadirán 6g de butanol a la solución agitada durante una hora a 35°C. Posteriormente, el gel será transferido a autoclaves de teflón y colocadas en un invernadero a 100 °C durante 24h. El sólido resultante será filtrado, secado y calcinado a 550°C durante 6h.

ii- Incorporación de metales en los materiales sintetizados

Para incorporar el metal se utilizará el método de modificación post-síntesis de la matriz silicea mediante impregnación húmeda [82]. Los metales de transición a incorporar serán Fe y Cu. El material se mezclará con soluciones del precursor del metal correspondiente, removiéndose luego el solvente con un evaporador rotatorio a 70°C. El sólido resultante se secará a 60 °C y se calcinará a 500°C en mufla durante 8 h. Se analizarán como variables de síntesis la concentración del precursor en la solución, temperatura, tiempo y pH del medio de impregnación.

iii- Funcionalización de los materiales sintetizados

Los materiales sintetizados serán modificados con grupos tioles mezclando SBA-15 o KIT-6 con HCl 0,1 M y 3-mercaptopropiltrimetoxisilano (MPTMS) para funcionalizar el soporte (SH-SBA-15 o SH-KIT-6). Después de agitar durante 7h a temperatura ambiente, a la mezcla se le realizará un tratamiento hidrotérmico por 24h a 100 °C. El producto sólido se filtrará y lavará con agua desionizada y etanol, dejándolo secar a 80°C hasta el otro día. A partir de este material funcionalizado se prepararán los grupos tiolsulfonato o tiolsulfinato para realizar la inmovilización covalente reversible [83].

Preparación del tiolsulfonato: el material con los grupos tiol (SH-SBA-15 o SH-KIT-6) será suspendido en acetato de sodio 0.2 M, pH 5.0 y se añadirá peróxido de hidrógeno (30%) dejando que la oxidación de los tioles a tiolsulfonato ocurra por 30h. El material oxidado se lavará con ácido acético 0,1 M hasta que quede libre de peróxido de hidrógeno [84].

Preparación del tiolsulfinato: el material con los grupos tiol (SH-SBA-15 o SH-KIT-6) será suspendido en fosfato de sodio 0.1 M, pH 7.0 para luego agregar ferricianuro de potasio 0,1 M. Luego el material será lavado con una solución de NaCl 1 M y acetato de sodio 0.2 M, pH 5.0 y secado. Se suspenderá el sólido obtenido en una solución de acetato de sodio 0.2 M, pH 5,0 y monoperoxifitalato de magnesio (0.5 moles por mol de grupos S-S). La suspensión se agitará durante 2h a temperatura ambiente para finalmente lavar minuciosamente el derivado del material en un filtro de vidrio sinterizado con solución de acetato de sodio 50 mM, pH 5.0 y ácido acético 0.1 M [84].

Los materiales se almacenarán a 4°C con una solución de acetato de sodio 0.2 M, pH=5 hasta su uso. Para la optimización de la activación de los materiales sintetizados se utilizará la Metodología de la Superficie de Respuesta (MSR).

iv- Caracterización fisicoquímica de los materiales y biocatalizadores insolubles sintetizados

Los soportes inorgánicos y los biocatalizadores insolubles (soporte-enzima) se caracterizarán fisicoquímicamente pre y post utilización por: microscopía de transmisión electrónica (TEM), difracción de rayos X (DRX) y dispersión de rayos X de ángulo reducido (SAXS) para la determinación de la regularidad de la estructura de los materiales SBA-15 y KIT-6, Isotermas de Adsorción - Desorción de N₂ para determinar

área específica, volumen y distribución de tamaño de poros. Absorción Atómica con plasma acoplado (AA-ICP) para determinar la composición de los materiales y la presencia de los metales incorporados en la estructura. La Espectroscopia Infrarroja con Transformada de Fourier (FT-IR), espectroscopia UV de sólidos y la Espectroscopia Fotoelectrónica de Rayos X (XPS) para inferir sobre la presencia, naturaleza y localización de distintas especies químicas ya sean orgánicas o inorgánicas. En esta actividad se evaluará el efecto de las variables de síntesis del material y de la inmovilización enzimática sobre la estructura, presencia, y naturaleza de las potenciales especies activas, buscando lograr un efecto sinérgico enzima-material con el fin de optimizar la eficiencia global del proceso. De ser necesario, se reformularán los materiales sintetizados a la luz de los resultados de la caracterización y de la actividad catalítica obtenidos. Tal eficiencia global será establecida, no sólo en función de la actividad biocatalítica sino también en función de la estabilidad y durabilidad de los biocatalizadores obtenidos.

Para llevar adelante el OE2 se requerirán las siguientes actividades:

i- Ensayo de actividad lacasa [53].

La actividad se determinará por oxidación del sustrato artificial (dimetoxifenol ó ABTS (2,2'azinobis-(3-etilbenzotiazolin 6-ácido sulfónico)).

La unidad de enzima (UE) fue definida como la cantidad de enzima necesaria para oxidar 1 µmol del sustrato por minuto en las condiciones del ensayo. La actividad se expresa en UE/L.

ii- Determinación de proteínas

Se empleará el método del Ácido bicinconínico (BCA) utilizando como estándar seroalbumina bovina [85]. La proteína inmovilizada se determinará por diferencia entre la proteína aplicada al soporte y la recuperada en sobrenadante y lavados.

iii-Producción y purificación de las lacasas a inmovilizar.

Las lacasas de Basidiomicetes son extracelulares, por lo cual se obtienen en el sobrenadante del medio de cultivo. Para obtener un mayor rendimiento de inmovilización de las enzimas de interés se buscará trabajar con lacasas purificadas, de esta forma se reduce la competencia con otros componentes del sobrenadante por los grupos reactivos del soporte. Se trabajará con lacasas de *Dichosterum sordulentum* 1488, *Trametes villosa* 1449 y *Pycnoporus sanguineus* 5050 pertenecientes a la colección del Departamento de Micología de Facultad de Ciencias, UdelaR. Las mismas se conservan a 4°C y son sub-cultivadas en Agar Malta (7 días, 28°C) cada 3 meses. Estas lacasas fueron seleccionadas en base a su capacidad para degradar estrógenos en solución [59, 86], comprobada durante la ejecución del Proyecto FCE_1_2019_1_156567) y para incrementar la posibilidad de obtener diferentes comportamientos al momento de ser inmovilizadas en los soportes mesoporosos.

La producción de lacasa de *Dichosterum sordulentum* se realizará por fermentación en fase semisólida utilizando corteza de Eucalyptus, como soporte y sustrato, con aireación pasiva y de forma estática a 28°C. El medio basal contendrá CuSO₄ 1.0 mM, KH₂PO₄ (2.0 g/L), MgSO₄·7H₂O (0.5 g/L), CaCl₂·2H₂O (0.1 g/L), peptona, glucosa en buffer citrato-fosfato 0.1 M pH 5.0, y corteza *E. dun nii* [59]. Su purificación se realizará a partir del sobrenadante del medio de cultivo, mediante una precipitación con acetona al 60% seguida por un intercambio iónico en DEAE-sepharose® del precipitado resuspendido.

La producción y purificación de la lacasa *Trametes villosa* se realizará según lo reportado por Gioia et al, 2014, el cultivo se realizará en extracto malta al 5% en presencia de 1. mM CuSO₄. A partir del sobrenadante del medio de cultivo, la purificación incluirá secuencialmente una precipitación salina con 80% sulfato de amonio, una cromatografía hidrofóbica en Phenyl sepharose® del precipitado resuspendido, desalado de las fracciones activas eluidas y finalmente un intercambio iónico en DEAE-Sephadex® con elución por gradiente salino.

La producción y purificación de lacasa de *Pycnoporus sanguineus* se realizará según lo previamente reportado [63, 87]. Básicamente, el cultivo se realizará por fermentación en fase semisólida utilizando corteza de Eucalyptus, como soporte y sustrato, con aireación pasiva y de forma estática a 28°C. El medio basal contendrá: KH₂PO₄ (2.0 g/L), MgSO₄·7H₂O (0.5 g/L), CaCl₂·2H₂O (0.1 g/L), tiamina 0.5 g/L, extracto de levadura (10 g/L), glucosa (5 g/L) en buffer citrato-fosfato 0.1 M pH 3.0, y corteza *E. dun nii*. Su purificación involucrará una precipitación cuantitativa de las proteínas del sobrenadante del medio de cultivo con (NH₄)₂SO₄ al 80 %, seguido de una diálisis contra fosfato de sodio 0.02 M pH 6.0 y finalmente un intercambio iónico dializado en DEAE-sepharose® con elución por aumento de fuerza iónica.

Para todas las lacasas, el grado de pureza alcanzado se monitoreará por electroforesis PAGE/SDS.

iv-Modificación química pre-inmovilización de las lacasas.

La experiencia en la inmovilización covalente reversible en geles tiol-reactivos de lacasa de *Trametes villosa* indica que deben incorporársele grupos tiol "de novo" para fijarla al soporte tiol-reactivo. Este proceso de tiolación se realizará utilizando el reactivo heterobifuncional N-succinimidil-3-(2-piridilditio) propionato (SPDP). Esta metodología también será empleada en el caso de que las lacasas de *Dichosterum sordulentum* y *Pycnoporus sanguineus* no se inmovilicen en su forma nativa. Asimismo, se evaluará otra posibilidad de incrementar los SH expuestos de estas enzimas, la reducción de sus puentes disulfuros con ditioneitol (DTT). El contenido de grupos tiol incorporados se determinará espectrofotométricamente por titulación con 5,5'-ditiobis (ácido 2-nitrobenzoico) (DTNB) [88].

v-Inmovilización de las lacasas en los soportes nanomesoporosos

Una vez seleccionado el (ó los) materiales funcionalizados con mayor cantidad de grupos tiol-reactivos/g, se procederá a la sintetizar los biocatalizadores insolubles. Para la optimización del proceso de inmovilización covalente reversible de las lacasas se empleará la Metodología de Superficie de Respuesta (MSR) empleando el software Desing Expert 10 (disponible en el laboratorio de Bioquímica de FQ) con dos niveles por factor. El uso de estos modelos permite reducir considerablemente el número de experimentos a realizar y con ello el gasto de reactivos y tiempo de trabajo. Además la MSR permite desarrollar modelos matemáticos para evaluar la significancia estadística de los factores que están siendo estudiados y la interacción entre ellos. Los parámetros a analizar serán cantidad de material mesoporoso (soporte), carga enzimática, concentración de NaCl, tiempo de incubación. En una inmovilización tipo, alícuotas de enzima (nativa y/o tiolada) se incubarán con una cantidad pesada de soporte seco, equilibrado en el buffer de inmovilización, fosfato de sodio 0.1M pH 7.5 (con ó sin NaCl). Las mezclas serán agitadas en rotatorque durante 24 h a 4 °C. Los derivados insolubles así obtenidos serán lavados secuencialmente con el buffer inmovilización; con fosfato de sodio 20 mM, pH 7,5, con y sin NaCl 0,5 M; y finalmente con fosfato de sodio 0,1 M (pH 6,0). Los derivados obtenidos se almacenan a 4°C hasta su uso.

Se analizará un método alternativo no covalente, la adsorción enzimática a los tamices, que será útil en caso que el método covalente reversible no generara derivados insolubles activos. Para ello, también se empleará la MRS, evaluándose los mismos factores. Para ello se suspenderá el soporte mesoporoso en una solución enzimática con buffer fosfato 25 mM, pH 7.5 y se mezclará por 4 h en un rotor [89]. Posteriormente, la suspensión será lavada con el buffer fosfato dos veces para luego ser secada hasta su uso.

Para llevar adelante el OE3 se requerirán las siguientes actividades

i-Efecto de iones metálicos sobre la actividad y estabilidad de las lacasas.

El efecto de iones metálicos en el microambiente que rodea la enzima es fundamentalmente dependiente del origen de la lacasa y concentración del ión. Dado que algunos de los tamices a utilizar como soportes de inmovilización contendrán metales de transición (Fe, Cu), se estudiará el efecto de estos metales sobre la capacidad oxidativa y estabilidad de estas oxidoreductasas. Para lo primero se procederá a incluir en el ensayo de actividad diferentes concentraciones de los iones en estudio, comparando la actividad medida con la obtenida en el ensayo en ausencia de los metales. La influencia sobre la estabilidad del biocatalizador requerirá incubar la proteína con el metal a distintas concentraciones y tiempos, luego se removerá el metal (por gelfiltración ó diálisis) y se cuantificará la actividad residual de la lacasa.

ii- Caracterización bioquímica de los biocatalizadores insolubles obtenidos

Para él (ó los) biocatalizadores insolubles más activos se evaluarán el porcentaje de inmovilización ($UE_{soporte} \times 100 / UE_{aplicadas}$) y la eficiencia de unión ($UE_{soporte} \times 100 / (UE_{sobrenadante} \text{ de inmovilización} - UE_{lavados})$). Asimismo, se estudiará la estabilidad del derivado con la temperatura y el pH, además se determinarán sus parámetros cinéticos K_M y V_{max} , empleando dimetoxifenol como sustrato.

Se realizarán ensayos de estabilidad operacional de los biocatalizadores insolubles, evaluando la actividad residual del biocatalizador luego de sucesivos reusos. Esto es importante desde el punto de vista económico ya que contribuirá a reducir el costo global del proceso donde se utilicen estos biocatalizadores.

iii- Biotransformación de estrógenos

La oxidación de los estrógenos se realizará en un sistema en batch, bajo agitación y temperatura ambiente, la mezcla de reacción estará compuesta por alícuotas de enzima libre y/o inmovilizada y solución de 17- α - etinilestradiol (EE2, 0.01 mg/mL). La reacción con enzima en solución se detendrá por alcalinización del medio con soda 2 N y en el caso del biocatalizador insoluble, por remoción del mismo por filtración. Se

realizará una extracción en fase sólida de los productos de reacción empleando columnas SPE (CHROMABOND C18) y se analizarán por HPLC DAD-UV, empleando un Sistema Shimadzu Prominence con un detector con arreglo de diodos operando a 280 nm y una Zorbax Eclipse XDB-C18 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). La cuantificación del etinilestradiol degradado se realizará por comparación entre el área del pico EE2 en mezclas reactivas y el área inicial del EE2.

Se emplearán controles para los diferentes soportes incubando los mismos con EE2, determinándose si existe adsorción del compuesto a biotransformar.

Para llevar adelante el OE4 se requerirán las siguientes actividades:

i- Vigilancia tecnológica

Se efectuará una actualización bibliográfica en forma permanente y durante todo el plazo en el que se extienda el proyecto.

ii- Difusión de los resultados

Los resultados obtenidos serán publicados en congresos y/o revistas nacionales e internacionales en las áreas de biocatálisis, materiales, química orgánica, química ambiental, biotecnología, etc. Se organizará un workshop con los integrantes del proyecto para exponer los resultados obtenidos. Los conocimientos generados en las áreas de la Biotecnología, Ingeniería de los Materiales y la Catálisis Enzimática serán puestos a disposición del medio productivo para su evaluación y escalado.

Plan de trabajo- Distribución de las actividades a realizar

Se distribuirán las tareas teniendo en cuenta los objetivos específicos planteados en el proyecto. Para agilizar el avance de los objetivos, el proyecto está pensado para que algunos objetivos comiencen a desarrollarse al mismo tiempo en los centros involucrados de forma de avanzar según lo expuesto en el cronograma de trabajo. En lo que se refiere a las actividades del OE1, la síntesis de los materiales mesoporosos y las caracterizaciones físico-químicas de los materiales mesoporosos puros, modificados con metales, funcionalizados con grupos tioles o que contengan las enzimas inmovilizadas serán realizados por el grupo de la Dra. Sibeles Pergher en Brasil. Allí la Dra. Marielle Mello será la responsable de sintetizar los soportes SBA-15 y KIT-6, durante esta actividad se realizará la Misión 1 (Argentina-Brasil).

Mientras que, las actividades de incorporación de metales en los materiales sintetizados y Funcionalización de los materiales sintetizados del OE1 serán dirigidas por el Dr. Gabriel Ferrero en Argentina. La incorporación de los metales de transición (Fe, Cu) será llevada a cabo por la Dra. Verónica Elías y el doctorando Fabrizio Viale, mientras que la funcionalización de los materiales con los grupos tiol reactivos estarán a cargo del Dr. Pablo Ochoa Rodríguez y el doctorando Germán Carrillo. La inmovilización por adsorción de las lacasas en los materiales modificados con metales, actividad del OE2, será responsabilidad del Dr. Ferrero, la Dra. Eimer y los doctorandos mencionados arriba. Los OE2 y OE3 serán abordados por el grupo que dirigen la Dra. Karen Ovsejevi y la Dra. Larissa Gioia en Uruguay. La Dra. Victoria Giorgi junto la estudiante de postgrado Valeria Vázquez se encargarán de la expresión y purificación de las lacasas (OE2). Mientras que las Dras. Karen Ovsejevi, Larissa Gioia y el becario a contratar estarán a cargo de la Inmovilización (por enlace covalente reversible) de las lacasas en los soportes mesoporosos (OE2). Durante el desarrollo de esta actividad se prevé realizar la Misión 2 (Argentina-Uruguay), así el Dr. Ferrero llevará los materiales funcionalizados con los grupos tiol para inmovilizar por enlace covalente reversible las enzimas purificadas. La Misión 3 (Argentina-Brasil) llevará la batería de materiales mesoporosos sintetizados para realizar las caracterizaciones físico-químicas en Brasil. Esta etapa será coordinada por las Dras. Pergher, Mello y el estudiante Francisco Emanuel da Silva. Con estos resultados se espera poder comparar los distintos tipos de síntesis evaluando la necesidad de optimizar algún parámetro. Además, durante la Misión 3 se comenzará a organizar el Workshop planificado para todo el equipo. Las actividades del OE3, efecto de los iones metálicos, caracterización bioquímica de los biocatalizadores insolubles obtenidos y biotransformación de estrógenos serán responsabilidad de las Dras. Ovsejevi, Gioia, Menéndez, la estudiante Vázquez y el becario a contratar. Durante el desarrollo de la actividad "Biotransformación de estrógenos" del OE3 se planea realizar la Misión 4 (Argentina-Uruguay), donde el becario Viale adquirirá experiencia en la determinación de la actividad de las enzimas inmovilizadas en los materiales del OE1 para degradar estrógenos acuosos. Para las actividades del OE4, publicación de resultados en congresos, revistas, etc., participarán todos los miembros del proyecto. Pasados 19 meses de iniciado el proyecto se propone realizar un Workshop con los integrantes para fomentar la interacción de los recursos humanos involucrados, exponer y analizar los resultados y definir los lineamientos finales para el cierre del proyecto.

Formulario_Proj._CABBIOUy_2023_vf

La metodología propuesta, basada en la aplicación del método científico, guiará los grupos de investigación de forma que los esfuerzos realizados en la síntesis de los materiales, la inmovilización enzimática y la optimización de la actividad de las lacasas inmovilizadas sean aprovechados al máximo para lograr una degradación eficiente de los estrógenos en agua. Para evaluar el avance de la investigación, se llevarán a cabo reuniones de trabajo mensuales, que incluirán seminarios o reuniones virtuales con los miembros del equipo del proyecto, con el fin de analizar de manera continua los resultados obtenidos. De esta manera, se valorará si se alcanzaron las metas planificadas o si es necesario reprogramar las actividades.

BIBLIOGRAFÍA

1. Eimer, G. a., Díaz, I., Sastre, E., Casuscelli, S. G., Crivello, M. E., Herrero, E. R., & Perez-Pariente, J. (2008). Mesoporous titanasilicates synthesized from TS-1 precursors with enhanced catalytic activity in the α -pinene selective oxidation. *Applied Catalysis A: General*, 343(1–2), 77–86. <https://doi.org/10.1016/j.apcata.2008.03.028>
2. Vaschetto, E. G., Fernández, J. D., Casuscelli, S. G., & Eimer, G. A. (2013). Selectively Obtaining ϵ -Caprolactam from Cyclohexanone Oxime Over Al-MCM-41 Catalysts. *Catalysis Letters*, 143(4), 333–338. <https://doi.org/10.1007/s10562-013-0971-0>
3. Elías, V., Vaschetto, E., Sapag, K., Oliva, M., Casuscelli, S., & Eimer, G. (2011). MCM-41-based materials for the photo-catalytic degradation of Acid Orange 7. *Catalysis Today*, 172(1), 58–65. <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2011.05.003>
4. Casuscelli, S. G., Eimer, G. a., Canepa, A., Heredia, A. C., Poncio, C. E., Crivello, M. E., ... Herrero, E. R. (2008). Ti-MCM-41 as catalyst for α -pinene oxidation. *Catalysis Today*, 133–135, 678–683. <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2007.12.104>
5. Benzaquén, T. B., Ochoa Rodríguez, P. A., Cánepa, A. L., Casuscelli, S. G., Elías, V. R., & Eimer, G. A. (2020). Heterogeneous Fenton reaction for the treatment of ACE in residual waters of pharmacological origin using Fe-SBA-15 nanocomposites. *Molecular Catalysis*, 481, 110239. <https://doi.org/10.1016/j.mcat.2018.11.010>
6. Ochoa Rodríguez, P. A., Vaschetto, E. G., Casuscelli, S. G., Elías, V. R., & Eimer, G. A. (2023). A Promising Alternative for Aqueous Effluents Treatment: Modified Mesoporous Materials that are Photoactive under LED Visible Radiation. *ChemistrySelect*, 8(18), e202300463. <https://doi.org/10.1002/SLCT.202300463>
7. Petrie, B., Barden, R., & Kasprzyk-Hordern, B. (2014). A review on emerging contaminants in wastewaters and the environment: Current knowledge, understudied areas and recommendations for future monitoring. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.08.053>
8. Cardoso, O., Porcher, J. M., & Sanchez, W. (2014). Factory-discharged pharmaceuticals could be a relevant source of aquatic environment contamination: Review of evidence and need for knowledge. *Chemosphere*, 115(1), 20–30. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2014.02.004>
9. Gogoi, A., Mazumder, P., Tyagi, V. K., Tushara Chaminda, G. G., An, A. K., & Kumar, M. (2018). Occurrence and fate of emerging contaminants in water environment: A review. *Groundwater for Sustainable Development*, 6(December 2017), 169–180. <https://doi.org/10.1016/j.gsd.2017.12.009>
10. Xiong, J. Q., Kurade, M. B., & Jeon, B. H. (2018). Can Microalgae Remove Pharmaceutical Contaminants from Water? *Trends in biotechnology*, 36(1), 30–44. <https://doi.org/10.1016/J.TIBTECH.2017.09.003>
11. Bexfield, L. M., Toccalino, P. L., Belitz, K., Foreman, W. T., & Furlong, E. T. (2019). Hormones and Pharmaceuticals in Groundwater Used As a Source of Drinking Water Across the United States. *Environmental Science and Technology*, 53(6), 2950–2960. https://doi.org/10.1021/ACS.EST.8B05592/SUPPL_FILE/ES8B05592_SI_002.XLSX
12. European Commission Directorate-General for Environment. (2019). Communication from the Commission to the European Parliament, the Council and the European economic and social Committee European Union Strategic Approach to Pharmaceuticals in the Environment COM/2019/128 final. Directorate-General for Environment.
13. Johnson, A. C., Dumont, E., Williams, R. J., Oldenkamp, R., Cisowska, I., & Sumpter, J. P. (2013). Do concentrations of ethinylestradiol, estradiol, and diclofenac in European rivers exceed proposed EU environmental quality standards? *Environmental Science and Technology*, 47(21), 12297–12304. <https://doi.org/10.1021/es4030035>
14. Adeel, M., Song, X., Wang, Y., Francis, D., & Yang, Y. (2017). Environmental impact of estrogens on human, animal and plant life: A critical review. *Environment International*, 99, 107–119. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2016.12.010>
15. Jobling, S., Williams, R., Johnson, A., Taylor, A., Gross-Sorokin, M., Nolan, M., ... Brighty, G. (2006). Predicted Exposures to Steroid Estrogens in U.K. Rivers Correlate with Widespread Sexual Disruption in Wild Fish

16. Populations. *Environmental Health Perspectives*, 114(Suppl 1), 32. <https://doi.org/10.1289/EHP.8050>
17. Kidd, K. A., Blanchfield, P. J., Mills, K. H., Palace, V. P., Evans, R. E., Lazorchak, J. M., & Flick, R. W. (2007). Collapse of a fish population after exposure to a synthetic estrogen. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(21), 8897–8901. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0609568104>
18. Larsson, D. G. J. (2014). Pollution from drug manufacturing: review and perspectives. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 369(1656). <https://doi.org/10.1098/RSTB.2013.0571>
19. United Nations. Department of Economic and Social Affairs. (2015). *Trends in Contraceptive Use Worldwide 2015. Trends in Contraceptive Use Worldwide 2015*. <https://doi.org/10.18356/f52491f9-en>
20. Haakenstad, A., Angelino, O., Irvine, C. M. S., Bhutta, Z. A., Bienhoff, K., Bintz, C., ... Lozano, R. (2022). Measuring contraceptive method mix, prevalence, and demand satisfied by age and marital status in 204 countries and territories, 1970–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *www.thelancet.com*, 400. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(22\)00936-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)00936-9)
21. Miguez, D. M. (2013). Integrated risk assessment of endocrine disruptors in the Uruguay River, (March), 1–360.
22. Griffero, L., Gomes, G., Berazategui, M., Fosalba, C., Teixeira de Mello, F., Rezende, C. E., ... Garcia-Alonso, J. (2018). Estrogenicity and cytotoxicity of sediments and water from the drinkwater source-basin of Montevideo city, Uruguay. *Ecotoxicology and Environmental Contamination*, 13(1), 15–22. <https://doi.org/10.5132/leec.2018.01.02>
23. Viana, L. F., do Amaral Crispim, B., Kummrow, F., de Lima, N. A., Dias, M. A., Montagner, C. C., ... Barufatti, A. (2023). Occurrence of contaminants of emerging concern and their risks to the Pantanal Sul-Mato-Grossense aquatic biota, Brazil. *Chemosphere*, 337, 139429. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2023.139429>
24. Minillo, A., Isique, W. D., Cardoso, C. A. L., & Suárez, Y. R. (2023). Occurrence and ecological risk assessment of pharmaceutically active compounds in neotropical small basins, Brazil. *Acta Limnologica Brasiliensis*, 35, e8. <https://doi.org/10.1590/S2179-975X7022>
25. Montagner, C. C., Sodré, F. F., Acayaba, R. D., Vidal, C., Campestrini, I., Locatelli, M. A., ... Jardim, W. F. (2019). Ten Years-Snapshot of the Occurrence of Emerging Contaminants in Drinking, Surface and Ground Waters and Wastewaters from São Paulo State, Brazil. *Article J. Braz. Chem. Soc*, 30(3), 614–632. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20180232>
26. Marson, E. O., Paniagua, C. E. S., Gomes Júnior, O., Gonçalves, B. R., Silva, V. M., Ricardo, I. A., ... Trovó, A. G. (2022). A review toward contaminants of emerging concern in Brazil: Occurrence, impact and their degradation by advanced oxidation process in aquatic matrices. *Science of The Total Environment*, 836, 155605. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2022.155605>
27. Babay, P. A., Romero Ale, E. E., Itria, R. F., Becquart, E. T., Thiele, B., & Batistoni, D. A. (2008). Simplified determination of lipophilic metabolites of nonylphenol ethoxylates: method development and application in aqueous samples from Buenos Aires, Argentina. *Journal of Environmental Monitoring*, 10(4), 443–452. <https://doi.org/10.1039/B717942A>
28. Valdés, M. E., Amé, M. V., Bistoni, M. de los A., & Wunderlin, D. A. (2014). Occurrence and bioaccumulation of pharmaceuticals in a fish species inhabiting the Suquia River basin (Córdoba, Argentina). *Science of The Total Environment*, 472, 389–396. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2013.10.124>
29. Scala-Benuzzi, M. L., Raba, J., Soler-Illia, G. J. A. A., Schneider, R. J., & Messina, G. A. (2018). Novel Electrochemical Paper-Based Immunocapture Assay for the Quantitative Determination of Ethinylestradiol in Water Samples. *Analytical Chemistry*, 90(6), 4104–4111. https://doi.org/10.1021/ACS.ANALCHEM.8B00028/SUPPL_FILE/AC8B00028_SI_001.PDF
30. Martínez, N. A., Schneider, R. J., Messina, G. A., & Raba, J. (2010). Modified paramagnetic beads in a microfluidic system for the determination of ethinylestradiol (EE2) in river water samples. *Biosensors and Bioelectronics*, 25(6), 1376–1381. <https://doi.org/10.1016/J.BIOS.2009.10.031>
31. Kunamneni, A., Plou, F. J., Ballesteros, A., & Alcalde, M. (2008). Laccases and Their Applications: A Patent Review. *Recent Patents on Biotechnology*, 2, 10–24.
32. Khelifi, R., Belbahri, L., Woodward, S., Ellouz, M., Dhoubi, A., Sayadi, S., & Mechichi, T. (2010). Decolourization and detoxification of textile industry wastewater by the laccase-mediator system. *Journal of Hazardous Materials*, 175(1), 802–808. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.10.079>
33. Hu, M. R., Chao, Y. P., Zhang, G. Q., Xue, Z. Q., & Qian, S. (2009). Laccase-mediator system in the decolorization of different types of recalcitrant dyes. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 36(1), 45–51. <https://doi.org/10.1007/S10295-008-0471-1>
34. Torres-Duarte, C., Roman, R., Tinoco, R., & Vazquez-Duhalt, R. (2009). Halogenated pesticide transformation by a laccase-mediator system. *Chemosphere*, 77(5), 687–692. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.07.039>
35. Camarero, S., Ibarra, D., Martínez, Á. T., Romero, J., Gutiérrez, A., & del Río, J. C. (2007). Paper pulp delignification using laccase and natural mediators. *Enzyme and Microbial Technology*, 40(5), 1264–1271. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2006.09.016>
36. Rodríguez Couto, S., Sanromán, M., & Gübitz, G. M. (2005). Influence of redox mediators and metal ions on synthetic acid dye decolourization by crude laccase from *Trametes hirsuta*. *Chemosphere*, 58(4), 417–422. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2004.09.033>
36. Bourbonnais, R., & Paice, M. G. (1990). Oxidation of non-phenolic substrates. *FEBS Letters*, 267(1), 99–102.

- [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(90\)80298-W](https://doi.org/10.1016/0014-5793(90)80298-W)
37. Macellaro, G., Pezzella, C., Cicatiello, P., Sannia, G., & Piscitelli, A. (2014). Fungal laccases degradation of endocrine disrupting compounds. *BioMed Research International*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/614038>
 38. Auriol, M., Filali-Meknassi, Y., Tyagi, R. D., & Adams, C. D. (2007). Laccase-catalyzed conversion of natural and synthetic hormones from a municipal wastewater. *Water Research*, 41(15), 3281–3288. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.05.008>
 39. Gałazka, A., & Jankiewicz, U. (2022). Endocrine Disrupting Compounds (Nonylphenol and Bisphenol A)–Sources, Harmfulness and Laccase-Assisted Degradation in the Aquatic Environment. *Microorganisms*, 10(11). <https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS10112236>
 40. Dong, C. Di, Tiwari, A., Anisha, G. S., Chen, C. W., Singh, A., Haldar, D., ... Singhania, R. R. (2023). Laccase: A potential biocatalyst for pollutant degradation. *Environmental Pollution*, 319, 120999. <https://doi.org/10.1016/J.ENVPOL.2023.120999>
 41. Sheldon, R. A. (2007). Enzyme Immobilization: The Quest for Optimum Performance. *Advanced Synthesis & Catalysis*, 349(8–9), 1289–1307. <https://doi.org/10.1002/ADSC.200700082>
 42. Lu, L., Zhao, M., & Wang, Y. (2007). Immobilization of laccase by alginate-chitosan microcapsules and its use in dye decolorization. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23(2), 159–166. <https://doi.org/10.1007/s11274-006-9205-6>
 43. Kunamneni, A., Ghazi, I., Camarero, S., Ballesteros, A., Plou, F. J., & Alcalde, M. (2008). Decolorization of synthetic dyes by laccase immobilized on epoxy-activated carriers. *Process Biochemistry*, 43(2), 169–178. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2007.11.009>
 44. Forde, J., Tully, E., Vakurov, A., Gibson, T. D., Millner, P., & Ó'Fágáin, C. (2010). Chemical modification and immobilisation of laccase from *Trametes hirsuta* and from *Myceliophthora thermophila*. *Enzyme and Microbial Technology*, 46(6), 430–437. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2010.01.004>
 45. Matijošytė, I., Arends, I. W. C. E., de Vries, S., & Sheldon, R. A. (2010). Preparation and use of cross-linked enzyme aggregates (CLEAs) of laccases. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 62(2), 142–148. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2009.09.019>
 46. Spinelli, D., Fatarella, E., Di Michele, A., & Pogni, R. (2013). Immobilization of fungal (*Trametes versicolor*) laccase onto Amberlite IR-120 H beads: Optimization and characterization. *Process Biochemistry*, 48(2), 218–223. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2012.12.005>
 47. Bezerra, T. M. D. S., Bassan, J. C., Santos, V. T. D. O., Ferraz, A., & Monti, R. (2015). Covalent immobilization of laccase in green coconut fiber and use in clarification of apple juice. *Process Biochemistry*, 50(3), 378–387. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2014.12.009>
 48. Gonzalez-coronel, L. A., Cobas, M., Rostro-alanis, M. D. J., Parra-saldivar, R., Hernandez-luna, C., Pazos, M., & Sanromán, M. Á. (2016). Immobilization of laccase of *Pycnoporus sanguineus* CS43. *New BIOTECHNOLOGY*. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2016.12.003>
 49. Dai, J., Wang, H., Chi, H., Wang, Y., & Zhao, J. (2016). Immobilization of laccase from *Pleurotus ostreatus* on magnetic separable SiO₂ support and excellent activity towards azo dye decolorization. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 4(2), 2585–2591. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2016.04.037>
 50. Fernandes, R. A., Daniel-da-silva, A. L., Tavares, A. P. M., & Xavier, A. M. R. B. (2017). EDTA-Cu (II) chelating magnetic nanoparticles as a support for laccase immobilization. *Chemical Engineering Science*, 158(October 2016), 599–605.
 51. Skoronski, E., Souza, D. H., Ely, C., Broilo, F., Fernandes, M., Fúrigo, A., & Ghislandi, M. G. (2017). Immobilization of laccase from *Aspergillus oryzae* on graphene nanosheets. *International Journal of Biological Macromolecules*, 99, 121–127. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2017.02.076>
 52. Zheng, F., Cui, B. K., Wu, X. J., Meng, G., Liu, H. X., & Si, J. (2016). Immobilization of laccase onto chitosan beads to enhance its capability to degrade synthetic dyes. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 110, 69–78. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.03.004>
 53. Gioia, L., Rodríguez-Couto, S., Menéndez, M. D. P., Manta, C., & Ovsejevi, K. (2015). Reversible covalent immobilization of *Trametes villosa* laccase onto thiolsulfinate-agarose: An insoluble biocatalyst with potential for decoloring recalcitrant dyes. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 62(4), 502–513. <https://doi.org/10.1002/bab.1287>
 54. Gioia, L., Ovsejevi, K., Manta, C., Míguez, D., & Menéndez, P. (2018). Biodegradation of acid dyes by an immobilized laccase: an ecotoxicological approach. *Environmental Science: Water Research & Technology*, 4(12), 2125–2135. <https://doi.org/10.1039/C8EW00595H>
 55. Daronch, N. A., Kelbert, M., Pereira, C. S., de Araújo, P. H. H., & de Oliveira, D. (2020). Elucidating the choice for a precise matrix for laccase immobilization: A review. *Chemical Engineering Journal*, 397(May), 125506. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.125506>
 56. Zhou, W., Zhang, W., & Cai, Y. (2021). Laccase immobilization for water purification: A comprehensive review. *Chemical Engineering Journal*, 403, 126272. <https://doi.org/10.1016/J.CEJ.2020.126272>
 57. Chen, Z., Oh, W. Da, & Yap, P. S. (2022). Recent advances in the utilization of immobilized laccase for the degradation of phenolic compounds in aqueous solutions: A review. *Chemosphere*, 307(P3), 135824. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.135824>
 58. Zdarta, J., Jankowska, K., Strybel, U., Marczak, Ł., Nguyen, L. N., Oleskiewicz-Popiel, P., & Jesionowski, T. (2022). Bioremoval of estrogens by laccase immobilized onto polyacrylonitrile/polyethersulfone material: Effect of inhibitors and mediators, process characterization and catalytic pathways determination. *Journal of*

- Hazardous Materials*, 432(March). <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.128688>
59. Vázquez, V., Giorgi, V., Bonfiglio, F., Menéndez, P., Gioia, L., & Ovsejevi, K. (2023). Lignocellulosic residues from bioethanol production: a novel source of biopolymers for laccase immobilization. *RSC Advances*, 13, 13463–13471. <https://doi.org/10.1039/D3RA01520C>
 60. Batista-Viera, F., Barbieri, M., Ovsejevi, K., Manta, C., & Carlsson, J. (1991). A new method for reversible immobilization of thiol biomolecules based on solid-phase bound thiolsulfonate groups. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 31(2), 175–195. <https://doi.org/10.1007/BF02921788>
 61. Arroyo, M. (1998). Inmovilización de enzimas. Fundamentos, métodos y aplicaciones. *Ars Pharmaceutica*. Retrieved from <http://farmacia.ugr.es/ars/pdf/125.pdf>
 62. Loi, M., Glazunova, O., Fedorova, T., Logrieco, A. F., & Mulè, G. (2021). Fungal Laccases: The Forefront of Enzymes for Sustainability. *Journal of Fungi* 2021, Vol. 7, Page 1048, 7(12), 1048. <https://doi.org/10.3390/JOF7121048>
 63. Gioia, L., Manta, C., Ovsejevi, K., Burgueño, J., Menéndez, P., & Rodríguez-Couto, S. (2014). Enhancing laccase production by a newly-isolated strain of *Pycnoporus sanguineus* with high potential for dye decolouration. *RSC Advances*, 4(64), 34096–34103. <https://doi.org/10.1039/c4ra06039c>
 64. Batista-Viera, F., Manta, C., & Carlsson, J. (1996). Covalent binding of thiols to thiolsuphinate-containing supports. *Biotechnology and applied biochemistry*, 24(3), 231–239.
 65. Thommes, M., Kaneko, K., Neimark, A. V., Olivier, J. P., Rodríguez-Reinoso, F., Rouquerol, J., & Sing, K. S. W. (2015). Physisorption of gases, with special reference to the evaluation of surface area and pore size distribution (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*, 87(9–10), 1051–1069. <https://doi.org/10.1515/PAC-2014-1117/MACHINEREADABLECITATION/RIS>
 66. Taguchi, A., & Schüth, F. (2005). Ordered mesoporous materials in catalysis. *Microporous and Mesoporous Materials*, 77(1), 1–45. <https://doi.org/10.1016/J.MICROMESO.2004.06.030>
 67. Corma, A. (1997). From Microporous to Mesoporous Molecular Sieve Materials and Their Use in Catalysis. *Chemical Reviews*, 97(6), 2373–2420. <https://doi.org/10.1021/cr960406n>
 68. Zhao, D., Huo, Q., Feng, J., Chmelka, B. F., & Stucky, G. D. (1998). Nonionic Triblock and Star Diblock Copolymer and Oligomeric Surfactant Syntheses of Highly Ordered, Hydrothermally Stable, Mesoporous Silica Structures. *Journal of the American Chemical Society*, 120(24), 6024–6036. <https://doi.org/10.1021/ja974025i>
 69. Chiola, V., Ritsko, J. E., & Vanderpool, C. D. (1969). Process for producing low-bulk density silica.
 70. Beck, J. S., Vartuli, J. C., Roth, W. J., Leonowicz, M. E., Kresge, C. T., Schmitt, K. D., ... Sheppard, E. W. (1992). A new family of mesoporous molecular sieves prepared with liquid crystal templates. *Journal of the American Chemical Society*, 114(27), 10834–10843. <https://doi.org/10.1021/ja00053a020>
 71. Meynen, V., Cool, P., & Vansant, E. F. (2009). Verified syntheses of mesoporous materials. *Microporous and Mesoporous Materials*, 125(3), 170–223. <https://doi.org/10.1016/J.MICROMESO.2009.03.046>
 72. Kleitz, F., Kim, T. W., & Ryoo, R. (2006). Phase domain of the cubic Im3m mesoporous silica in the EO 106PO70EO106-butanol-H2O system. *Langmuir*, 22(1), 440–445. <https://doi.org/10.1021/la052047+>
 73. F. Kleitz, S. H. C. and R. R. (2003). Cubic Ia3d large mesoporous silica: synthesis and replication to platinum nanowires, carbon nanorods and carbon nanotubes. *Chemical communications (Cambridge, England)*, (17), 2136–2137. <https://doi.org/10.1039/b306504a>
 74. Kleitz, F., Bérubé, F., Guillet-Nicolas, R., Yang, C. M., & Thommes, M. (2010). Probing adsorption, pore condensation, and hysteresis behavior of pure fluids in three-dimensional cubic mesoporous KIT-6 silica. *Journal of Physical Chemistry C*, 114(20), 9344–9355. <https://doi.org/10.1021/jp909836v>
 75. Guo, W., Kleitz, F., Cho, K., & Ryoo, R. (2010). Large pore phenylene-bridged mesoporous organosilica with bicontinuous cubic Ia3d (KIT-6) mesostructure. *Journal of Materials Chemistry*, 20(38), 8257–8265. <https://doi.org/10.1039/c0jm01518k>
 76. Eimer, G. A., Pierella, L. B., Monti, G. A., & Anunziata, O. A. (2002). Synthesis and characterization of Al-MCM-41 and Al-MCM-48 mesoporous materials, 78(March), 65–75.
 77. Prabhu, A., Kumaresan, L., Palanichamy, M., & Murugesan, V. (2009). Synthesis and characterization of aluminium incorporated mesoporous KIT-6: Efficient catalyst for acylation of phenol. *Applied Catalysis A: General*, 360(1), 59–65. <https://doi.org/10.1016/J.APCATA.2009.03.004>
 78. Prabhu, A., Kumaresan, L., Palanichamy, M., & Murugesan, V. (2010). Cerium-incorporated cage-type mesoporous KIT-6 materials: Synthesis, characterization and catalytic applications. *Applied Catalysis A: General*, 374(1–2), 11–17. <https://doi.org/10.1016/J.APCATA.2009.11.016>
 79. Aka, B. Z. E., Djeni, T. N., Konan, H. K., Semeniciu, C. A., Rotar, A. M., Suharoschi, R., & Dje, M. K. (2021). Characterization of a Potential Isozyme Laccase from *Trametes polyzona* MPS1-3 and its Contribution to Palm Oil Mill Effluent Treatment. *Current Microbiology*, 78(8), 3246–3257. <https://doi.org/10.1007/S00284-021-02598-3/METRICS>
 80. Li, Q., Pei, J., Zhao, L., Xie, J., Cao, F., & Wang, G. (2014). Overexpression and characterization of laccase from *Trametes versicolor* in *Pichia pastoris*. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 50(2), 140–147. <https://doi.org/10.1134/S0003683814020124/METRICS>
 81. Daâssi, D., Zouari-Mechichi, H., Prieto, A., Martínez, M. J., Nasri, M., & Mechichi, T. (2013). Purification and biochemical characterization of a new alkali-stable laccase from *Trametes* sp. isolated in Tunisia: Role of the enzyme in olive mill waste water treatment. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 29(11), 2145–2155. <https://doi.org/10.1007/S11274-013-1380-7/METRICS>
 82. Elias, V. R., Ferrero, G. O., Oliveira, R. G., & Eimer, G. A. (2016). Improved stability in SBA-15 mesoporous

- materials as catalysts for photo-degradation processes. *Microporous and Mesoporous Materials*, 236, 218–227. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2016.09.001>
83. Yang, L. M., Wang, Y. J., Luo, G. S., & Dai, Y. Y. (2005). Functionalization of SBA-15 mesoporous silica with thiol or sulfonic acid groups under the crystallization conditions. *Microporous and Mesoporous Materials*, 84(1–3), 275–282. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2005.05.037>
84. Batista-Viera, F., Ovsejevi, K., & Manta, C. (2006). Reversible covalent immobilization of enzymes via their thiol groups. In J. M. Guisan (Ed.), *Methods in Biotechnology: Immobilization of Enzymes and Cells* (2nd ed., pp. 185–204). Totowa, New Jersey: Humana Press Inc. Retrieved from http://link.springer.com/protocol/10.1007/978-1-59745-053-9_17
85. Smith, P. K., Krohn, R. I., Hermanson, G. T., Mallia, A. K., Gartner, F. H., Provenzano, M. D., ... Klenk, D. C. (1985). Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Analytical biochemistry*, 150(1), 76–85. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3843705>
86. Garcia-Morales, R., Rodríguez-Delgado, M., Gomez-Mariscal, K., Orona-Navar, C., Hernandez-Luna, C., Torres, E., ... Ornelas-Soto, N. (2015). Biotransformation of Endocrine-Disrupting Compounds in Groundwater: Bisphenol A, Nonylphenol, Ethynylestradiol and Triclosan by a Laccase Cocktail from *Pycnoporus sanguineus* CS43. *Water, Air, and Soil Pollution*, 226(8), 1–14. <https://doi.org/10.1007/s11270-015-2514-3>
87. Gioia Fabre, L. (2017). *Producción, caracterización e inmovilización de lacasas para uso en biocatálisis y biorremediación*. Universidad de la República.
88. Ellman, G. L. (1958). A colorimetric method for determining low concentrations of mercaptans. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 74(2), 443–450. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(58\)90014-6](https://doi.org/10.1016/0003-9861(58)90014-6)
89. Ferrero, G. O., Rojas, H. J., Argaraña, C. E., & Eimer, G. A. (2016). Towards sustainable biofuel production: Design of a new biocatalyst to biodiesel synthesis from waste oil and commercial ethanol. *Journal of Cleaner Production*, 139, 495–503. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.08.047>

5.4 RESULTADOS ESPERADOS

Para abordar la problemática expuesta en este proyecto se parte de la siguiente hipótesis:

“es posible inmovilizar enzimas lacasas en materiales mesoporosos a base de silicio para aumentar su estabilidad, actividad y reusos para degradar contaminantes emergentes en agua (estrógenos) con fines medioambientales”

De acuerdo con los objetivos específicos planteados, se espera sintetizar exitosamente materiales mesoporosos nanoestructurados a base de silicio tipo SBA-15 y KIT-6. Este último presenta una red de canales tridimensionales interconectados respecto a los canales unidimensionales de la SBA-15, esto podría mejorar el acceso y la estabilidad de las enzimas a inmovilizar y además, facilitarían la difusión de los reactivos y productos de la reacción. Se espera que la modificación con metales de transición en la estructura del material pueda ejercer un efecto sinérgico con la enzima inmovilizada, ya que esta utiliza como cofactor el Cu. Mientras que al funcionalizar los soportes con grupos tiol-reactivos, se presume que las lacasas inmovilizadas con por enlaces covalentes reversibles presentarán mayores ciclos de uso al reducir la pérdida de la enzima respecto a la inmovilización por adsorción (materiales no funcionalizados con grupos tiol-reactivos). Cuando la actividad enzimática sea nula, se espera poder liberar la enzima inactiva para reutilizar el material mesoporoso, esto se lograría debido al tipo de enlace covalente reversible utilizado (enlaces disulfuro, S-S). A partir de las pruebas con los contaminantes emergentes en medios acuosos se evaluará la performance de la enzima libre comparada a las inmovilizadas por adsorción o enlace covalente. La eficiencia del proceso será establecida, no sólo en función de la actividad biocatalítica sino también en función de la estabilidad y durabilidad de los biocatalizadores obtenidos. En este punto, las caracterizaciones fisicoquímicas realizadas a los soportes inorgánicos y los biocatalizadores insolubles (soporte-enzima) servirán para explicar el efecto de las variables de síntesis del material y de la inmovilización enzimática en la degradación de estrógenos acuosos determinada, indicando también si es necesario reformular los materiales sintetizados. Una vez optimizada las condiciones de degradación de los contaminantes se espera determinar el número de reusos de las enzimas inmovilizadas y el número de reusos del material funcionalizado con los grupos tiol-reactivos para nuevas inmovilizaciones. Los resultados obtenidos serán sometidos a consideración para su presentación en congresos o su publicación en revistas científicas internacionales para lograr su difusión en la comunidad científica. Como este proyecto propone un abordaje interdisciplinario donde se contempla la articulación de la Ingeniería de los Materiales y la Biotecnología, se espera que el Workshop planificado y las misiones de los recursos humanos en los grupos de investigación de la Facultad de Química de la Universidad de la República (Uruguay), el Instituto de Química (Brasil) y en el Centro de Investigación en Tecnología Química (Argentina) generen un enriquecimiento técnico y académico para los centros y sus integrantes, fomentando el trabajo en equipo para el avance científico de la región.

5.5 DIFUSIÓN DE LOS RESULTADOS

Describir los mecanismos previstos para la difusión de los resultados esperados.

Al finalizar la investigación científica que se propone realizar en este Proyecto, se utilizarán varios medios de difusión, con el fin de hacer públicos los hallazgos obtenidos y el conocimiento alcanzado pasará a ser patrimonio de la comunidad científica y del público en general.

Se realizará una difusión popular de los hechos científicos, a través de los medios masivos de comunicación y la divulgación especializada que se realizará por canales académicos.

En primer lugar, la divulgación especializada de los resultados de las investigaciones se hará mediante su publicación en una revista científica arbitrada.

Por otra parte, la presentación en eventos científicos (nacionales e internacionales) permitirá dar a conocer los conocimientos alcanzados sobre los temas tratados en la investigación, lo que contribuye a la socialización de los resultados.

5.6 CRONOGRAMA DE LAS ACTIVIDADES

ACTIVIDADES PROGRAMADAS												
	AÑO 1				AÑO 2				AÑO 3			
	T 1	T 2	T 3	T 4	T 1	T 2	T 3	T 4	T 1	T 2	T 3	T 4
1. Diseño, preparación y caracterización fisicoquímica de los materiales SBA-15 y KIT-6 (Misión 1)	X	X	X	X	X							
2. Incorporación de los metales Fe, Cu en la superficie de los materiales SBA-15 y KIT-6.					X	X						
3. Producción y purificación de las lacasas origen fúngico. Efecto de los metales en la actividad y estabilidad de las lacasas.		X	X	X	X							
4. Incorporación, optimización y caracterización de grupos tiol-reactivos en los materiales mesoporosos sintetizados						X	X					
5. Inmovilización por adsorción o por enlace covalente reversible de las lacasas de origen fúngico en los materiales. Organización del workshop (Misión 2, Argentina-Uruguay). Determinación de la actividad de los biocatalizadores insolubles sintetizados.						X	X	X				
6. Caracterización bioquímica de los biocatalizadores insolubles						X	X	X	X			
7. Caracterización de las propiedades fisicoquímicas de los materiales sintetizados (Misión 3, Argentina-Brasil) y los biocatalizadores híbridos enzima-soporte obtenidos mediante diversas técnicas instrumentales, relacionando estructura, sitios activos y reactividad. Organización del workshop.					X	X	X	X	X			
8. Degradación de estrógenos en agua utilizando las lacasas inmovilizadas (Misión 4, Argentina-Uruguay).							X	X	X			
9. Workshop para el análisis de los resultados obtenidos y rediseño de los biocatalizadores de ser necesario.							X					
10. Divulgación de los resultados en congresos y revistas científicas nacionales e internacionales y/o transferencia al medio socio-productivo.		X	X	X	X	X	X	X	X			

6 IMPACTO ESPERADO DE LA ACTIVIDAD

Describir el impacto esperado del proyecto en la generación de conocimiento científico-tecnológico y formación de recursos humanos

6.1 GENERACIÓN DE CONOCIMIENTO CIENTÍFICO-TECNOLÓGICO

Describir el aporte del proyecto a la generación de conocimiento científico - tecnológico

La realización de este proyecto permitirá el desarrollo de metodologías enmarcadas en los principios de la "Química Verde" para abordar un problema de creciente impacto, como es la presencia de compuestos estrogénicos en el medio ambiente acuático. El uso de enzimas para la gestión de aguas contaminadas permite diseñar procesos alternativos a los métodos convencionales de tratamiento de aguas residuales, más eficientes, ecológicos y económicos. En particular, las lacasas por su gran capacidad para biotransformar compuestos de muy variada estructura química, hace que los biocatalizadores insolubles obtenidos tengan un gran potencial para otras aplicaciones biocatalíticas como por ejemplo, la degradación de otros contaminantes emergentes. Así, se estaría logrando un importante avance hacia el diseño de nuevos procesos de potabilización de aguas y/o reúso de aguas contaminadas para diferentes fines (higiene, lavados, riego, etc.). Por esto, el hombre y el medio ambiente serán los principales beneficiarios de los resultados obtenidos.

Por otro lado, el desarrollo de nuevos soportes para la inmovilización de enzimas constituye otro aporte científico-tecnológico, proporcionando materiales mesoporosos de distinta morfología con la incorporación de metales que les otorgan propiedades únicas. Además, la activación con grupos tiol-reactivos posibilita la liberación del biocatalizador cuando se inactiva por su uso continuo, permitiendo el reutilizar el soporte.

A nivel de la comunidad científica, se considera de gran importancia la formación de nuevos recursos humanos y el fortalecimiento de la vinculación con los distintos investigadores participantes dando lugar a la consolidación de un grupo multidisciplinario en una nueva línea de investigación.

En resumen, los contaminantes emergentes pueden tener un impacto significativo en la salud, el medio ambiente y la economía de Brasil, Uruguay y Argentina. La magnitud de estos impactos variará según la naturaleza y la concentración de los contaminantes, así como la capacidad de cada país para abordar estos problemas a través de regulaciones y acciones de mitigación. El monitoreo continuo y la gestión efectiva de los contaminantes emergentes es crucial para garantizar la sostenibilidad ambiental y socioeconómica en la región, minimizando estos impactos.

6.2 FORMACIÓN DE RECURSOS HUMANOS Y CREACIÓN DE NUEVOS GRUPOS DE INVESTIGACIÓN

Describir si el proyecto y la actividad propuesta contribuyen a la formación de investigadores y técnicos y a la creación de nuevos grupos de investigación

El presente proyecto busca fortalecer la formación de estudiantes de grado y posgrado en diferentes áreas:

- Química de materiales (síntesis, inclusión de metales, funcionalización y caracterización de los materiales mesoporosos)
- Bioquímica y Microbiología (enzimología, producción de enzimas de origen fúngico, purificación de proteínas, etc)
- Química analítica (incluyendo distintas técnicas cromatográficas y procesamiento de muestras)

Asimismo, la creación de un grupo interdisciplinario a partir del trabajo en conjunto y totalmente complementario de 3 grupos de investigadores pertenecientes a Argentina, Brasil y Uruguay, será relevante para el intercambio de conocimientos y futuras colaboraciones, como pasantías, co-tutorías de estudiantes, organización de eventos científicos, creación de cursos, desarrollo de nuevas propuestas de trabajo, entre otras.

Parte de lo anteriormente mencionado comenzará a cumplirse con las 4 Misiones propuestas por el grupo argentino a ser desarrolladas durante la ejecución del presente proyecto: :

Misión 1 (Argentina-Brasil)

Doctorando: Germán Carrillo

Objetivo: Síntesis y caracterización de KIT-6

Lugar: Instituto de Química (Brasil). Tiempo: 15 días

Tareas: Aprovechando la experiencia del laboratorio de la Dra. Pergher, el doctorando Carrillo aprenderá la metodología para sintetizar el material KIT-6, material que no se sintetiza en el CITeQ. Este material tiene como ventaja una red de canales tridimensionales interconectados respecto a los canales unidimensionales de la SBA-15, favoreciendo el flujo de los reactivos y productos. Para luego en Argentina modificar el material con metales de transición o funcionalizarlo con grupos tiol-reactivos.

Misión 2 (Argentina-Uruguay)

Investigador: Dr. Gabriel Ferrero

Objetivo: Inmovilizar las lacasas fúngicas en los materiales mesoporosos funcionalizados con grupos tiol-reactivos

Lugar: Facultad de Química de la Universidad de la República (Uruguay). Tiempo: 20 días

Tareas: Esta misión está planificada para que el Dr. Ferrero lleve los materiales funcionalizados con los grupos tiol-reactivos al laboratorio de la Dra. Ovsejevi y allí realizar la inmovilización covalente reversible con las lacasas que la Dra. Ovsejevi purificó. Además, se preve coordinar las actividades a realizar en el workshop.

Misión 3 (Argentina-Brasil)

Investigador: Dr. Gabriel Ferrero

Objetivo: Determinar las propiedades físico-químicas de los biocatalizadores insolubles sintetizados

Lugar: Instituto de Química (IQ, Brasil). Tiempo: 15 días

Tareas: Se participará en la determinación del tamaño y volumen de poro de los materiales, la estructura el área ocupada y libre, el contenido de metal, las especies orgánicas e inorgánicas presentes en los biocatalizadores híbridos desarrollados en el OE3. Para ello se utilizarán técnicas como FT-IR, XPS, ICP, Isotermas de adsorción/desorción de N₂, etc., que se encuentran disponibles en el IQ. Esta misión será clave para correlacionar la actividad de los biocatalizadores híbridos con las técnicas de síntesis e inmovilización. También se aprovechará esta misión para organizar las actividades del workshop.

Misión 4 (Argentina-Uruguay)

Doctorando: Fabrizio Viale

Objetivo: Evaluar la actividad de las lacasas inmovilizadas por adsorción en los materiales mesoporosos

Lugar: Facultad de Química de la Universidad de la República (Uruguay). Tiempo: 15 días

Tareas: Durante su estadía, el doctorando Viale trabajará junto con la Dra. Gioia para determinar la actividad de las lacasas inmovilizadas por adsorción en los soportes sintetizados para degradar estrógenos en aguas. La tesis del doctorando Viale en Argentina, se enmarca en la degradación del fenol utilizando la enzima peroxidasa de rábano picante, por lo que su estadía en la Facultad de Química de la Universidad de la República sería sumamente provechosa para adquirir entrenamiento en nuevas metodologías, ampliar su conocimiento en técnicas para la eliminación de compuestos orgánicos vía enzimática y poder aportar su experiencia.

Formulario_Proj._CABBIOUy_2023_vf

9. PRESUPUESTO

Rubros		Solicitado a CABBIO (Pesos Uruguayos)	Otros aportes (Pesos Uruguayos)
A	PERSONAL:		
	1. RESPONSABLE CIENTÍFICO		
	2. INVESTIGADORES NACIONALES		
	Actuales		
	A contratar	836.757	
	3. PERSONAL TÉCNICO DE APOYO		
	Actual		
	A contratar		
	4. PERSONAL DEL EXTERIOR		
	Investigadores visitantes		
	Consultores extranjeros		
B	SERVICIOS TÉCN. Y CONSULT. NAC.		
C	ADECUACIONES LOCATIVAS		
D	EQUIPOS:		
	1. ADQUISICIÓN		
	2. MANTENIMIENTO		
	3. ARRENDAMIENTO		
E	MATERIAL FUNGIBLE Y NO FUNGIBLE	22.443	
F	DOCUMENTACIÓN Y BIBLIOGRAFÍA		
G	CAPACITACIÓN:		
	1. PASANTÍAS		
	2. OTROS		
H	VIAJES:		
	1. EN EL PAÍS		
	2. AL EXTERIOR	40.800	
I	EVENTOS DE PROMOCIÓN Y DIFUSIÓN		
J	GASTOS DE VINCUL. A REDES DE INFO.		
K	IMPREVISTOS (máx. 5% del total)		
L	OTROS (especifique)		
TOTAL		900.000	

10. PRESUPUESTO DETALLADO POR RUBRO (en dólares y pesos, según corresponda)**A. PERSONAL**

En la columna Categoría indicar si corresponde a cat. I, II ó III

A.1 RESPONSABLE CIENTÍFICO/TÉCNICO DEL PROYECTO (en pesos)

Nombre	Categoría	Carga horaria en la institución (hrs./sem)	Hs. dedicadas al proyecto (hrs./sem)	Hs. financiadas CABBIO (hrs./sem)	Meses	Solicitado A CABBIO \$

A.2.1 INVESTIGADORES NACIONALES QUE INTERVIENEN EN EL PROYECTO (en pesos)

Nombre	Categoría	Carga horaria en la institución (hrs./sem)	Hs. dedicadas al proyecto (hrs./sem)	Hs. financiadas CABBIO (hrs./sem)	Meses	Solicitado A CABBIO \$
TOTAL						

A.2.2 INVESTIGADORES NACIONALES A CONTRATAR (en pesos)

Nombre o función en el proyecto*	Categoría	Dedicación horaria prevista en el proyecto (hrs./sem)	Meses	Solicitado A CABBIO \$
TOTAL				

* En el caso de cargos que se llamarán a concurso, no debe indicarse el nombre de la persona deseada sino la función que tendría la persona seleccionada en el proyecto. En este caso no debe adjuntarse un curriculum vitae en el Anexo 1 sino los términos de referencia del cargo (facultativo).¹
El total de horas dedicadas a la institución, proyectos CABBIO, etc, no podrá superar las 60 hs/semana para cada investigador.

A.3.1 PERSONAL TÉCNICO DE APOYO ACTUAL (en pesos)

Nombre	Categoría	Carga horaria en la institución (hrs./sem)	Hs. dedicadas al proyecto (hrs./sem)	Hs. financiadas por CABBIO (hrs./sem)	Meses	Solicitado a CABBIO \$
					TOTAL	

A.3.2 PERSONAL TÉCNICO DE APOYO A CONTRATAR (en pesos)

Nombre o función en el proyecto	Categoría	Dedicación horaria prevista en el proyecto (hrs./sem)	Meses	Solicitado a CABBIO \$
Becario a contratar	Grado1	20	12	339.695
Becario a contratar	Grado 1	25	12	497.662
			TOTAL	837.357

A.4.1. INVESTIGADORES VISITANTES

Nombre o función en el proyecto	Institución de origen	Viáticos (\$)	Duración (días)	Total solicitado a CABBIO \$
			TOTAL	

(*)

A.4.2. CONSULTORES DEL EXTERIOR

Nombre	función en el proyecto	Institución de origen	Viáticos (\$)	Duración (días)	Total solicitado a CABBIO \$
				TOTAL	

(*)

(*) Nota: Los viáticos se calcularán con un máximo de U\$S 50 (cincuenta dólares americanos) por noche.

B. SERVICIOS TÉCNICOS Y CONSULTORÍAS NACIONALES

Descripción	Justificación en función del Proyecto	Solicitado a CABBIO (\$)	Otros aportes (\$)	Costo total (\$)
	TOTAL			

C. ADECUACIONES LOCATIVAS

Sólo pueden incluirse obras menores para adecuar espacios o instalación de equipos a los fines del proyecto, cuyo costo total no podrá superar el 25% del financiamiento total solicitado a CABBIO para el proyecto.

Descripción	Justificación en función del Proyecto	Solicitado a CABBIO (\$)	Otros aportes (\$)	Costo total (\$)
	TOTAL			

D. ADQUISICIÓN DE EQUIPOS

Precisar el tipo de equipo a adquirir. Debe adjuntarse un presupuesto detallado y actualizado de proveedores.

Los equipos de procedencia extranjera deben presupuestarse en dólares y los nacionales en pesos.

La adquisición de los equipos, se realizará de acuerdo con el procedimiento establecido a tales efectos en el TOCAF.

Descripción	Adquisición, mantenimiento o arrendamiento	Solicitado a CABBIO		Otros aportes		Costo total	
		\$	U\$S	\$U	U\$S	\$U	U\$S
	TOTAL						

E. MATERIALES E INSUMOS

Los materiales e insumos de procedencia extranjera deben presupuestarse en dólares y los nacionales en pesos.

Descripción	Solicitado a CABBIO		Otros aportes		Costo total	
	\$	U\$S	\$U	U\$S	\$U	U\$S
Reactivos y consumibles	22.443	561				
TOTAL	22.443					

F. DOCUMENTACIÓN Y BIBLIOGRAFÍA

La documentación y/o bibliografía de procedencia extranjera debe presupuestarse en dólares y la de origen nacional en pesos.

Descripción	Solicitado a CABBIO		Otros aportes		Costo total	
	\$	U\$S	\$	U\$S	\$U	U\$S
TOTAL						

G. CAPACITACIÓN**G.1.1 PASANTÍAS EN EL EXTERIOR (presupuestar en dólares)**

Nombre del investigador	Laboratorio - Institución	/Ciudad /país	Duración (días)	Pasaje (U\$S)	Total Solicitado a CABBIO (U\$S)	Otros aportes (U\$S)	Costo total (U\$S)
TOTAL							

G.1.2 PASANTÍAS EN EL PAÍS (presupuestar en pesos)

Nombre del investigador	Laboratorio	Institución	Duración (días)	Viáticos* (\$)	Total solicitado CABBIO (\$)	Otros aportes (\$)	Costo total (\$)
				TOTAL			

H. VIAJES

H.1 EN EL PAÍS

Nombre	Justificación	Duración (días)	Pasajes \$	Viáticos (\$)	Total solicitado a CABBIO (\$)	Otros aportes (\$)	Costo total (\$)
				TOTAL			

H.2 VIAJES AL EXTERIOR

Nombre	Justificación	Duración (días)	Pasajes (U\$S)	Viáticos (\$)	Total solicitado a CABBIO (U\$S)	Otros aportes (U\$S)	Costo total (U\$S)
Karen Ovsejevi	Asistencia a Workshop asociado al Proyecto	3	270	9600	510		
Larissa Gioia	Asistencia a Workshop asociado al Proyecto	3	270	9600	510		
				TOTAL	1020		

I. EVENTOS DE PROMOCIÓN Y DIFUSIÓN

Describir el tipo de evento a realizar para la promoción y/o difusión del proyecto.

Descripción	Justificación dentro del proyecto	Solicitado a CABBIO (\$)	Otros aportes (\$)	Costo total (\$)
TOTAL				

J. GASTOS DE VINCULACIÓN A REDES DE INFORMACIÓN

Describir el tipo de vinculación.

Descripción	Justificación dentro del proyecto	Solicitado a CABBIO (\$)	Otros aportes (\$)	Costo total (\$)
TOTAL				

29/9/23, 7:24


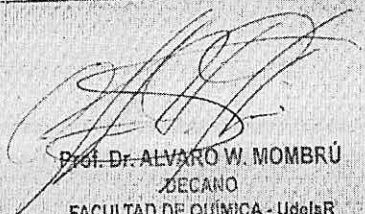

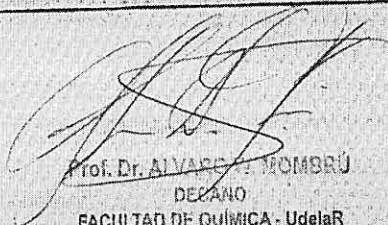
PHOTO-2023-09-28-17-30-12.jpg

10. FIRMAS

El presente formulario se tomará como declaración jurada.

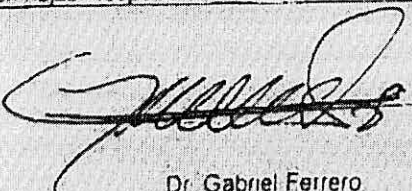

Deberá contener las firmas originales de las autoridades uruguayas y la firma de cada director extranjero podrá ser escaneada. En caso de ser seleccionado para financiamiento se solicitará que envíe la hoja con las firmas autoridades uruguayas

FIRMAS URUGUAY

 Dra. Karen Ovsejevi	 Prof. Dr. ALVARO W. MOMBRÚ DECANO FACULTAD DE QUÍMICA - UdelaR
Firma y Aclaración del Director Uruguayo del Proyecto	Firma, Aclaración y sello del Representante Institucional
 Dra. Larissa Gioia	 Prof. Dr. ALVARO W. MOMBRÚ DECANO FACULTAD DE QUÍMICA - UdelaR
Firma y Aclaración del Director Uruguayo del Proyecto	Firma, Aclaración y sello del Representante Institucional

FIRMAS EXTRANJERAS

(Las firmas de los investigadores de Argentina y Brasil pueden ser presentadas escaneadas en hojas independientes)

 Dr. Gabriel Ferrero	 Dra. Sibeles Pergher
Firma y Aclaración del Director ARGENTINO del Proyecto	Firma y Aclaración del Director BRASILERO del Proyecto

ANEXO 1 - CURRICULUM VITAE de los integrantes del grupo de investigación uruguayo y del responsable y co- responsable del grupo argentino y brasilero.

Nombre	Link a CVuy o Lattes
Karen Ovsejevi (Uruguay)	https://exportcvuy.anii.org.uy/CvEstatico/?urlId=2a854070dc01a65d869e59d714367cf9d2d02c584802a122e4a26bba7e7452993a3367e4923938d0655b92f29b0cb0f0852ab4d344daea1f7fab0f3bc86782f1&formato=pdf&convocatoria=21
Larissa Gioia (Uruguay)	https://export.cvuy.uy/cv/?051bf4f223b4e5e9f92f2ab935f1bd66dc912dfb8a501243f7621b1b362af1e9c2c8efb9c9289d3f3e2cbaf53d50e2b7c196e1c74925f30fab3354272c72e257
María del Pilar Menéndez (Uruguay)	https://export.cvuy.uy/cv/?3bf53ffc4c851c7713429760a5fa92a15f292ed8927bdbcbf432dd677082886344f47f5310b02eb7c7207dc9c05bad1fff266332eed11ed4a3fc83cec9dcc16f
Victoria Giorgi (Uruguay)	https://export.cvuy.uy/cv/?83be5c89fadf76e45c0dd34d5b44e814e3cb6509b69282e866969a7b7ca93cc0419009894d094cb9ae0388f4e21e1bc2ac6acbac2f4b787ee6dd734bd7705dea
Valeria Vázquez (Uruguay)	https://export.cvuy.uy/cv/?890d642197e56f3eae398d27fb253b93
Sibele Pergher (Brasil)	http://lattes.cnpq.br/5249001430287414
Gabriel Ferrero (Argentina)	Se adjunta su CV



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

Montevideo, 29 de setiembre de 2023.-

Sres. /as. del Centro Latinoamericano de Biotecnología - CABBIO

De mi consideración:

Por la presente quien suscribe, Prof. Dr. Alvaro W. Mombrú, en calidad de Decano de la Facultad de Química de la Universidad de la República - Uruguay, declara conocer y aceptar los términos y condiciones previstas para la ejecución del proyecto "*Nanobioingeniería para la eliminación de contaminantes emergentes en aguas: Inmovilización de lacasas fúngicas en materiales mesoporosos para la degradación de estrógenos*" postulado a la "CONVOCATORIA CABBIO 2023 PARA LA PRESENTACIÓN DE PROYECTOS CONJUNTOS DE INVESTIGACIÓN en Uruguay, Argentina y Brasil" por parte de la Dra. Karen Ovsejevi y la Dra. Larissa Gioia como Responsables Científicas por Uruguay.

Asimismo, se declara conocer y aceptar los términos y condiciones previstas para la ejecución del Proyecto, estando conformes con todas aquellas actividades que se prevean realizar con nuestro aporte y/o recursos establecidos en el mismo.

Atentamente,

Prof. Dr. Alvaro W. Mombrú
Decano
Facultad de Química - Udelar



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
INSTITUTO DE QUÍMICA

OFÍCIO Nº 19 / 2023 - IQ-UFRN (12.88)

Nº do Protocolo: 23077.140326/2023-85

Natal-RN, 28 de setembro de 2023.

Prezados Senhores,

Venho por este meio escrever-lhe para expressar meu apoio ao projeto apresentado pela Dra. Sibele B. C. Pergher à convocatória 2023 do CENTRO LATINO-AMERICANO DE BIOTECNOLOGIA, sob o título: "Nanobioengenharia para a eliminação de contaminantes emergentes em águas: Imobilização de lacases fúngicas em materiais mesoporosos para a degradação dos estrogênios. A Dra Pergher possui uma sólida experiência na área de materiais porosos, incluindo os materiais mesoporos e com isso participar do projeto e alcançar os objetivos do mesmo. Além da sua capacidade de trabalhar em equipe apoiam sua aptidão de realizar este projeto com sucesso. O Dr. Ferrero responsável pela direção do grupo argentino no Centro de Química Pesquisa e Tecnologia (CITEQ-UTN-CONICET), possui uma base sólida em processos de imobilização enzimática para alcançar a biocatálise heterogênea proposta como objetivo geral e a Dra. Karen Ovsejevi responsável pela direção do grupo Uruguaio na Faculdade de Química da Universidade da República Oriental do Uruguai será de extrema importância para resolver o problema dos contaminantes emergentes na água e reconheço o impacto positivo que este projeto poderia ter na nossa comunidade e na linha de pesquisa da Dra Sibele Pergher (LABPEMOL ? LABORATORIO DE PENEIRAS MOLECULARES).

Estamos disponíveis para fornecer qualquer informação adicional que seja necessária.
Enviamos os votos de sucesso contínuo no seu importante trabalho.

Atenciosamente,

(Assinado digitalmente em 28/09/2023 19:37)

ELEDIR VITOR SOBRINHO
DIRETOR - TITULAR
IQ-UFRN (12.88)
Matrícula: 2302898

Visualize o documento original em <https://sipac.ufrn.br/public/documentos/index.jsp> informando seu número:
19, ano: 2023, tipo: OFÍCIO, data de emissão: 28/09/2023 e o código de verificação: 91f3378386

Córdoba, 28 de septiembre de 2023

Ministerio de Ciencia,
Tecnología e Innovación de la Nación
Dirección Nacional de Promoción
de la Política Científica – Cooperación Internacional

Por medio de la presente me dirijo a usted para expresar mi apoyo al proyecto presentado por el Dr. Gabriel Ferrero al CENTRO LATINOAMERICANO DE BIOTECNOLOGÍA convocatoria 2023, bajo el título: *"Nanobioingeniería para la eliminación de contaminantes emergentes en aguas: Inmovilización de lacasas fúngicas en materiales mesoporosos para la degradación de estrógenos"*.

El Dr. Ferrero posee una sólida base en los procesos de inmovilización enzimática para lograr la biocatálisis heterogénea propuesta como objetivo general, esto y su capacidad para trabajar en equipo respalda su capacidad para llevar a cabo este proyecto con éxito. Considero que la cooperación con la Dra. Sibebe Pergher, del Instituto de Química de la Universidade Federal do Rio Grande do Norte y responsable de la dirección del grupo de Brasil, como así también la Dra. Karen Ovsejevi de la Facultad de Química de la Universidad de la República Oriental del Uruguay y responsable de la dirección del grupo de Uruguay, será de suma importancia para abordar el problema de los contaminantes emergentes en agua. A su vez, reconozco el impacto positivo que este proyecto podría tener en nuestra comunidad y en la línea de investigación del Centro de investigación y Tecnología Química (CITeQ-UTN-CONICET), en la que participa el Dr. Ferrero.

Agradezco sinceramente su atención y consideración. Estoy a su disposición para proporcionar cualquier información adicional que pueda necesitar.

Le envío mis más cordiales saludos



Dra. Mónica E. Crivello
Directora CITeQ – UTN-CONICET