

16. Ciencias e Ingeniería de Materiales

**Nanocatalizadores de platino soportados sobre un sistema proteína de capa-S/partículas poliméricas: obtención, caracterización y comportamiento en la reacción de reducción de p-nitrofenol.**

Sofía Huggias; Patricia A. Bolla; María A. Serradell; Pablo J. Peruzzo; Mónica L. Casella

shuggias@quimica.unlp.edu.ar

Facultad de Ciencias Exactas

Universidad Nacional de La Plata

---

**Resumen**

En este trabajo se prepararon y caracterizaron bionanocatalizadores de platino soportados sobre un *template* formado por proteínas de capa-S y nanopartículas poliméricas. Las proteínas de capa-S utilizadas fueron aisladas de *L. kefir* y las nanopartículas poliméricas fueron a base de poliuretano y acrílico, sintetizados mediante el método del prepolímero y por polimerización en emulsión, respectivamente. Una vez obtenidos los catalizadores, se lo redujo con H<sub>2</sub> gaseoso a temperatura ambiente. Todos los sistemas fueron caracterizados por FTIR y microscopía electrónica de transmisión para evaluar la eficiencia de la síntesis de las nanopartículas poliméricas, la morfología del *template* proteína de capa-S/nanopartículas poliméricas y la distribución de tamaños de las partículas metálicas. Los catalizadores se emplearon en la reacción de reducción del p-nitrofenol con NaBH<sub>4</sub>, la cual fue seguida espectrofotométricamente, midiendo la absorción del reactivo a 400 nm. Se obtuvieron conversiones de entre 80 y 100% para tiempos de reacción de entre 1 y 1.5 h, obteniéndose los mejores resultados con el catalizador soportado sobre el *template* capa-S de *L. kefir* 83111/acrílico. La excelente performance alcanzada se asigna a la capacidad del *template* proteínas de capa-S/nanopartículas poliméricas de actuar como guía del crecimiento y ensamblaje de las nanopartículas de platino.

**Palabras clave:** Capa-S, bionanocatalizadores poliméricos, Platino, p-nitrofenol

## Introducción

En los últimos años ha cobrado gran relevancia la utilización de nuevos nanomateriales en diferentes ramas de la ciencia. La nanobiotecnología se ocupa tanto del descubrimiento de nuevos biomateriales en nanoescala como del desarrollo de nuevas técnicas experimentales y teóricas para la creación de nanosistemas innovadores y materiales nanoestructurados [1].

Los avances en la fisico-química de los polímeros permiten la preparación de nanopartículas de polímeros con una amplia gama de propiedades en condiciones controladas [2,3]. Actualmente es posible preparar una gran variedad de partículas poliméricas de diferente composición, tamaño y estructura, como por ejemplo en base a poliestireno y poliacrílicos, entre otros polímeros [4, 5]. Un tipo particular de estos sistemas coloidales son los microgeles y los nanogeles [6]. La mayor parte de los nanogeles sintéticos se producen a partir de la combinación adecuada de monómeros acrílicos [7].

Por otra parte, el área de la formación y manipulación de nanoestructuras se ha visto recientemente influenciado por el uso de plantillas biológicas que permiten transferir aspectos fundamentales de auto-ensamblaje biológico. Los materiales compuestos generados a partir de la

combinación de nanopartículas y/o nanomateriales con proteínas ha sido un tema de estudio en los últimos años debido a la gran variedad de aplicaciones que estos sistemas prometen.

La adsorción de proteínas en partículas de polímero tiene una importancia significativa en diversas aplicaciones [8,9]. Entre ellas se destaca su utilización como soporte de nanocatalizadores a base de metales preciosos [10].

El elevado orden de las capas superficiales proteicas paracrystalinas de algunas bacterias se utilizaron como matrices para la producción de nanopartículas de platino, paladio, y oro sin modificaciones químicas [11, 12,13]. Dentro de las proteínas superficiales con capacidad de formar plantillas se destacan las proteínas de capa-S. Estas proteínas, presentan una estructura regular bidimensional cuasi cristalina, constituidas por proteínas o glicoproteínas con un peso molecular que oscila entre los 40 y 200 kDa, con un espesor de 5 a 15 nm, y constituyen la envoltura celular más externa de muchas bacterias y arqueas [14]. La capa-S está compuesta por subunidades idénticas dispuestas periódicamente, lo cual conduce a una distribución espacial precisa de sitios con características fisicoquímicas particulares que pueden ser utilizadas para llevar a cabo una reacción química específica.

Estas particulares características permiten emplear a las capas-S como plantillas para la obtención de clusters metálicos con una estrecha distribución de tamaños de partícula [15].

Tomando en cuenta todas las consideraciones expuestas, la presente contribución explora la preparación y caracterización de nanobiocatalizadores de platino soportados sobre un sistema capa-S/polímero. Como test catalítico de los sistemas propuestos, se seleccionó la reducción de p-nitrofenol. Esta reacción no solamente es una “reacción catalítica modelo”, sino que además la reducción de nitroderivados como el p-nitrofenol se presenta como un gran desafío debido a la naturaleza contaminante de estos compuestos [16].

### Objetivos

Obtención de nanopartículas de platino soportadas en un sistema compuesto: proteínas de Capa-S/partículas poliméricas para posterior caracterización y evaluación de la performance catalítica en la reacción de reducción de p-nitrofenol con  $\text{NaBH}_4$ .

### Materiales y Métodos

#### 1. Selección de cepas bacterianas.

Se utilizaron las cepas de *L. kefir* CIDCA 8348 y *L. kefir* CIDCA 83111 pertenecientes a la colección del Centro

de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA, CONICET-CIC-UNLP), disponibles en la Cátedra de Microbiología de la FCE de la UNLP. Las bacterias se cultivaron en caldo de Man-Rogosa-Sharpe (MRS) durante 48 h a 32°C, en aerobiosis.

#### 2. Extracción de Proteínas de Capa-S

A partir de los cultivos en fase estacionaria en caldo MRS, ajustado a  $\text{DO}=1$  a 600 nm, se obtuvieron las proteínas de capa-S de *L. kefir* CIDCA 8348 (Sa) y *L. kefir* CIDCA 83111 (S). Las células se cosecharon por centrifugación a 16000 g durante 20 min a 4°C. Después de la primera etapa de centrifugación, las células se lavaron tres veces por resuspensión repetida/centrifugación a 16000 g con buffer fosfato-salino (PBS). Después de las etapas de lavado, el sedimento se resuspendió en un volumen de 10 veces de buffer 5 x 10<sup>-2</sup> M Tris-Cl pH=7.2, clorhidrato de guanidinio 5 M, se agitó durante 20 min a temperatura ambiente, y se centrifugó a 40000 g durante 30 min a 10°C. El sobrenadante que contenía a la proteína de capa S se recogió y se centrifugó de nuevo a 40000 g durante 30 min a 10°C (2 veces). El sobrenadante clarificado se sometió a cromatografía de exclusión de tamaño utilizando una columna Superdex 200 (GE Healthcare). Las fracciones que contenían

la capa S se agruparon y se dializaron frente a buffer  $5 \times 10^{-2}$  M Tris pH=7.8,  $10^{-3}$  M tetra acetato de etilendiamina (EDTA). Finalmente, las soluciones de capa S purificada se ajustaron para dar una concentración de proteína de stock de aproximadamente  $5 \times 10^{-6}$  M, y se almacenaron a 4°C. La pureza de la proteína de capa-S se evaluó mediante electroforesis en gel de poliacrilamida dodecilsulfato de sodio (SDS-PAGE) y se tiñó con Coomassie Blue.

### 3. *Obtención de nanopartículas poliméricas.*

Como soporte de la proteína se utilizaron partículas de poliuretano (PU) y acrílico (AC) en dispersión acuosa. La dispersión acuosa de poliuretano se sintetizó empleando el método del prepolímero mediante la poliadición de diisocianato de isoforona (IPDI), polipropilenglicol (Voranol 2110; Mn=1000 Da), metacrilato de 2-hidroxietilo (HEMA) y ácido 2,2-bis(hidroximetil) propiónico (DMPA). El prepolímero obtenido fue dispersado en agua en presencia de hidrazina (extensor de cadena) y posteriormente fue sometido a una polimerización en dispersión empleando persulfato de potasio como iniciador (KPS). Para obtener el polímero acrílico, se realizó una polimerización en emulsión de una mezcla de metacrilato de metilo (MMA), acrilato de n-butilo (BuA) y

ácidometacrílico (MAA) en una relación de 45/53/2 %p/p, en presencia de dodecilsulfato de sodio como emulsionante (2%p/p respecto de la masa de monómeros acrílicos) empleando KPS como iniciador. En ambos casos se siguió el protocolo propuesto por P. Peruzzo et al. obteniéndose dispersiones acuosas de aproximadamente 30 %p/p de contenido de sólidos. Las dispersiones fueron purificadas mediante diálisis contra agua (membrana PVDF Spectra/Por(R) Biotech, MWCO=106 Da). [17].

### 4. *Preparación y caracterización de los soportes catalíticos proteína de capa-S/nanopartículas poliméricas.*

Se prepararon cuatro soportes empleando las dos proteínas de capa-S aisladas y los dos polímeros preparados, a saber: SAC, SaAC, SPU y SaPU. La adsorción de las proteínas S y Sa sobre las partículas poliméricas de PU y AC, se llevó a cabo poniendo en contacto durante 24 h y a 25°C, 500  $\mu$ L de solución de proteína (aprox. 1 mg/mL) con 450  $\mu$ L o 370  $\mu$ L de dispersión acuosa de polímero al 1 %p/p para el caso de S o Sa, respectivamente. Los soportes se obtienen por atracción electrostática entre las nanopartículas de polímero y la proteína. Transcurrido el período de contacto, los sólidos se centrifugaron, eliminando el sobrenadante

con la proteína libre (no fijada en el sólido).

Los soportes obtenidos fueron caracterizados por espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR) mediante la técnica de DRIFT empleando un equipo NICOLET 370 (Thermo), adquiriendo 64 barridos por experimento con una resolución de  $4\text{ cm}^{-1}$ . Su morfología fue evaluada mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM) empleando un equipo JEM 1200 EX II-JEOL. Las dispersiones convenientemente diluidas fueron secadas sobre grillas de cobre con recubrimiento de carbón y teñidas con ácido fosfotúngstico al 1% previo a su observación

##### *5. Preparación y caracterización de catalizadores de Pt soportados.*

La preparación de los bionanocatalizadores de platino empleando los cuatro soportes sintetizados, se realizó utilizando soluciones de cloro complejos de platino 1% p/v, con posterior reducción de la fase metálica con  $\text{H}_2$  gaseoso. Típicamente,  $900\mu\text{L}$  de suspensión acuosa del soporte se puso en contacto con  $100\mu\text{L}$  de solución de  $(\text{NH}_4)_2\text{PtCl}_4$  1% p/v durante 24 h a  $25^\circ\text{C}$ . A continuación, el sistema se centrifugó a 8500 rpm y se colectaron ambas fracciones. Se realizaron lavados

exhaustivos por resuspensión repetida y centrifugación a 8500 rpm, recuperando ambas fracciones. Los sobrenadantes se conservaron a fin de determinar el contenido de Pt no depositado sobre el soporte; el sólido corresponde al catalizador a evaluar. El catalizador se resuspendió en 5 mL de agua nanopura y se redujo en corriente de  $\text{H}_2$  a  $25^\circ\text{C}$ . Los catalizadores así obtenidos se designan: Pt/SaAC, Pt/SAC, Pt/SaPU y Pt/SPU.

La caracterización de los catalizadores se llevó a cabo fundamentalmente por microscopía electrónica de transmisión (TEM). Las grillas de cobre recubiertas de carbón-coated sobre las que se colocó el catalizador se analizaron en un microscopio JEOL modelo 1200EX operado a una tensión de aceleración de 80 kV.

##### *6. Actividad catalítica. Aplicación en la reacción de reducción de p-nitrofenol.*

Los cuatro catalizadores Pt/SaAC, Pt/SAC, Pt/SaPU y Pt/SPU, así como un catalizador convencional 1% Pt/C fueron evaluados en la reacción de reducción en fase acuosa de p-nitrofenol a presión atmosférica. En cada ensayo, 0.3 mL de suspensión del catalizador se evaluó frente a una mezcla de reacción compuesta por 0.3 mL de p-nitrofenol  $2.5 \times 10^{-5}\text{ M}$  y 0.7 mL de  $\text{NaBH}_4$  1M. El avance de la reacción se siguió por

espectroscopía UV-visible (espectrofotómetro Cintra 20, GBC ScientificEquipment) midiendo el cambio de absorbancia asociada a la reducción de p-nitrofenol.

## Resultados y Discusión

### 1. Caracterización de las proteínas de capa-S.

A fin de conocer el despliegue estructural que presentan las proteínas de capa-S que se utilizaron como template para los nuevos catalizadores, se obtuvieron imágenes de microscopía TEM. En la Figura 1 se muestran las imágenes obtenidas de la proteína purificada. Se observan arreglos regulares de la proteína con tendencia hacia una geometría hexagonal de partículas nanométricas de dimensión entre 30-40 nm. Este ordenamiento regular hace a la proteína un candidato adecuado para la constitución de catalizadores nanoestructurados. Sin embargo, la resolución debería ser mayor para tener una idea más acabada de la estructura.

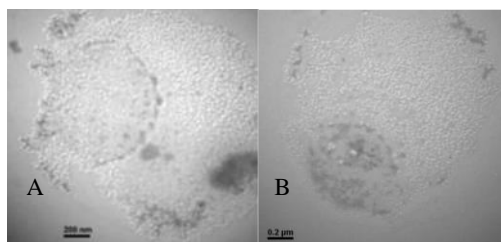


Figura 1: imagen TEM de proteínas de capa-S de *L. kefir*. Proteína de capa-S 8348 (A), proteína de capa-S 83111 (B).

### 2. Caracterización del template polímero/proteína.

Los espectros FTIR de los polímeros PU y AC, las proteínas (S y Sa) y los soportes SAC, SaAC, SPU y SaPU se presentan en la Figura 2. El espectro del polímero acrílico AC presentó sus bandas características localizadas en  $1734\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu\text{C=O}$ ),  $1168\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu\text{C-O}$ ) y una banda débil en  $3440\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu\text{O-H}$ ). Por su parte, el PU presentó bandas a  $3380\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu\text{N-H}$ ),  $1710\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu\text{C=O}$  llamada Amida I) y  $1537\text{ cm}^{-1}$  ( $\delta\text{N-H} + \nu\text{C-N}$ , llamada Amida II) características de los enlaces uretano. En ambos polímeros se observaron las contribuciones asignadas a los estiramientos C-H ( $2875$  a  $2960\text{ cm}^{-1}$ ). En el caso de las proteínas, éstas presentaron las señales típicas tales como una banda ancha alrededor de  $3300\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu\text{N-H}$ ), una banda a  $1650\text{-}1660\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu\text{C=O}$ , Amida I), otra a  $1535\text{ cm}^{-1}$  ( $\delta\text{N-H} + \nu\text{C-N}$  Amida II, y la banda Amida III a  $1200\text{-}1300\text{ cm}^{-1}$  [18,19]. Los espectros FTIR de los soportes presentaron la contribución de las bandas típicas de ambos componentes. Además, se observó una nueva contribución a  $1629\text{ cm}^{-1}$  y un desplazamiento de la banda Amida II de la proteína hacia mayor número de onda debido a la interacción entre ambos materiales como puede observarse en la región ampliada de los espectros.

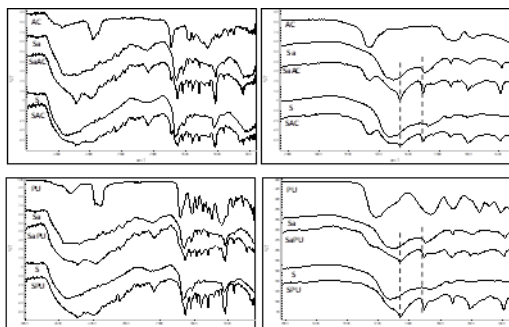


Figura 2: Espectros FTIR de los polímeros, proteínas y soportes preparados en base a AC (a y b) y PU (c y d). Las imágenes de la derecha corresponden a un detalle de la región 1500- de los grupos carbonilo.

Además, las imágenes TEM mostraron la presencia de un depósito de la proteína en torno a las nanopartículas poliméricas, como se muestra en la Figura 3 para el caso del soporte SAC.

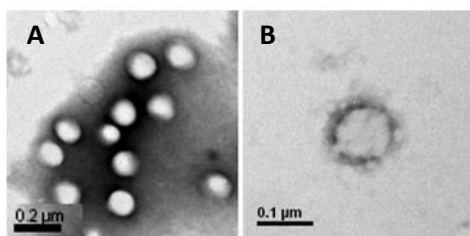


Figura 3. Imagen TEM, tinción negativa, de nanopartículas poliméricas AC (A) y sistema proteína/polímero SAC (B).

### 3. Caracterización del catalizador Pt/proteína/polímero.

La estructura de los catalizadores preparados, Pt/SaAC, Pt/SAC, Pt/SaPU y Pt/SPU, se estudió mediante microscopía de transmisión TEM. A modo de ejemplo, en la Figura 4 se presentan imágenes correspondientes a los catalizadores Pt/SAC y Pt/SPU, donde se observan

claramente las nanopartículas de platino dispersas sobre el correspondiente soporte, obteniéndose nanopartículas compuestas con morfología de tipo "strawberry".

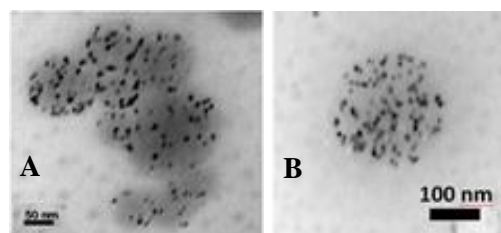


Figura 4. Imagen TEM de los catalizadores Pt/SAC (A) y Pt/SPU (B).

Las distribuciones de tamaño de partícula de platino metálico correspondientes a cada uno de los catalizadores se muestran en la Figura 5. El tamaño de las partículas de platino fue determinado utilizando el software ImageJ.

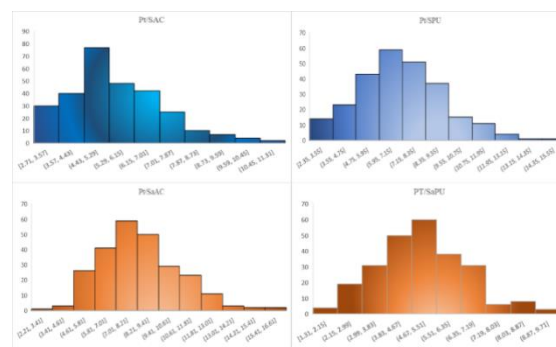


Figura 5. Tamaño de partículas de Pt (nm) para los catalizadores Pt/SAC, Pt/SPU, Pt/SaAC y Pt/SaPU (de izquierda a derecha y de arriba hacia abajo).

Para estimar el tamaño promedio (dTEM) de las partículas a partir de las imágenes TEM, se consideró que las partículas eran esféricas y se utilizó la ecuación 1.

$$d_{TEM} = \frac{\sum n_i d_i^3}{\sum n_i d_i^2} \quad (1)$$

La dispersión metálica (D) se calcula a partir del valor de dTEM, mediante la ecuación 2.

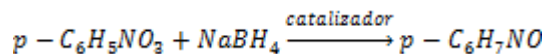
$$D = \frac{6MPt \sum n_i d_i^3}{\sigma \rho Pt \sum n_i d_i^2} \quad (2)$$

Donde MPt y ρPt son la masa molar y la densidad del Pt, respectivamente; ni es el número de partículas con un diámetro di y σ es el área ocupada por 1 mol de Pt sobre la superficie (3,75 × 10<sup>4</sup> m<sup>2</sup>/mol). El tamaño de las nanopartículas de Pt así como la dispersión global de Pt obtenida se presentan en la Tabla 1. Los diámetros de las nanopartículas de Pt varían entre 5.92 y 9.53 nm, siendo las más pequeñas las correspondientes al catalizador Pt/SaPU (Tabla 1). Los valores obtenidos son mayores que los logrados al soportar el platino directamente sobre la proteína de capa-S (3.74 nm [20]), lo cual es indicativo de la influencia de las nanopartículas poliméricas en la generación del catalizador.

Tabla 1. Característica de los catalizadores Pt/proteína/polímero.

Catalizador de Pt	Polímero	Proteína	d <sub>TEM</sub> (nm)	Dispersión metálica (%)
Pt/SAC	Acrílico	83111	6.52	22
Pt/SPU	Poliuretano	83111	8.47	17
Pt/SaAC	Acrílico	8348	9.53	15
Pt/SaPU	Poliuretano	8348	5.92	24

4. *Actividad catalítica. Aplicación en la reacción de reducción de p-nitrofenol.*



EL p-nitrofenol en presencia de NaBH<sub>4</sub> da como resultado p-nitrofenolato el cual presenta pico de máxima absorción a 400nm, que permanece inalterado en el tiempo en ausencia de catalizador. En presencia de catalizador, a medida que transcurre el tiempo, los espectros de absorción muestran la gradual desaparición del pico a 400 nm que se acompaña del desarrollo concertado de una banda menos intensa a 300 nm correspondiente a la formación de p-aminofenol (Figura 6). Los espectros UV también exhiben un punto isobéptico entre estas dos bandas de absorción, lo que indica que solo estas dos especies, el p-nitrofenol y el p-aminofenol, influyen en la cinética de la reacción.

La adición de pequeñas cantidades de catalizador Pt/proteína/polímero provoca una disminución en la intensidad de la banda a 400 nm con conversiones que van entre 78 y 100% dependiendo del tipo de catalizador utilizado (Figura 7).



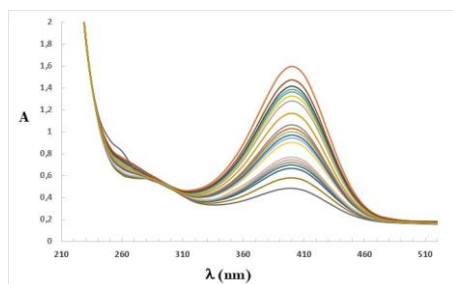


Figura 6. Espectro de absorción de p-nitrofenolato a diferentes tiempos de reacción.

Estos valores se obtienen al cabo de no más de 90 min de reacción siendo este tiempo variable para cada catalizador estudiado. Se ensayó también un catalizador de 1%Pt/C y en las mismas condiciones se obtuvo una conversión por debajo del 10% al cabo de 90 min.

Los catalizadores en base acrílica presentaron una mejor eficiencia respecto a los poliuretanos, observándose conversiones de 100% al cabo de 60-70 min de reacción. En particular, aquellos constituidos por proteína S presentaron el mejor desempeño en términos de conversión Tabla 2.

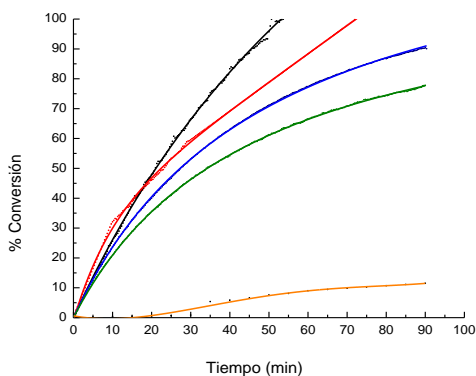


Figura 7. Porcentaje de conversión en función del tiempo de reacción  
Pt/SAC —, Pt/SPU —, Pt/SaAC —, Pt/SaPU — y CC —.

Estos resultados indican que las nanoestructuras Pt/Capa-S/polímero pueden catalizar con éxito la reacción de reducción. El 50% de conversión se llega más rápidamente para los catalizadores acrílicos (20 min) que lo poliuretanos (27-35min), aproximadamente.

Cabe destacar que al final de la reacción el catalizador permaneció inalterado macroscópicamente y la solución se tornó translúcida lo que también indica el final de la reacción.

Tabla 2. Actividad catalítica.

Catalizador de Pt	Velocidad inicial (moles/min)	Tiempo de reacción (min)	Conversión (%)
Pt/SAC	2.60	60	100
Pt/SPU	2.76	90	90
Pt/SaAC	4.19	70	100
Pt/SaPU	2.47	90	78
Pt/C	--	90	10

## Conclusiones

Se obtuvieron nanocatalizadores poliméricos de Pt, utilizando como template proteínas de capa-S de dos cepas diferentes de *L. kefir* soportadas sobre acrílico y poliuretano. Estos catalizadores resultaron activos para la reducción de p-nitrofenol en presencia de  $\text{NaBH}_4$ , con altos porcentajes de conversión, en particular aquellos que contienen soporte acrílico y capa-S.

## Bibliografía

- [1] Barth A. (2007). Infrared spectroscopy of proteins. *Biochimica et Biophysica Acta* 1767, 1073-1101.
- [2] Bolla P.A., Sanz A., Huggias S., Ruggera J.F., Serradell M.Á., Casella M.L. (2017). Obtención de arreglos regulares de nanopartículas metálicas sobre proteínas de capa S aisladas de *Lactobacillus kefir*. Estudio de su capacidad catalítica. *Actas del XX Congreso Argentino de Catálisis*, ID194
- [3] Búcsi A., Forcada J., Gibanel S., Héroguez V., Fontanille M., Gnanou Y. (1998). Monodisperse Polystyrene Latex Particles Functionalized by the Macromonomer Technique. *Macromolecules* 31, 2087-2097.
- [4] Creamer N.J., Mikheenko I.P., Yong P., Deplanche K., Sanyahumbi D., Wood J., Pollmann K., Merroun M., Selenska-Pobell S., Macaskie L.E. (2007). Novel supported Pd hydrogenation bionanocatalyst for hybrid homogeneous/heterogeneous catalysis. *Catalysis Today* 128, 80–87.
- [5] Fahmy K., Merroun M., Pollmann K., Raff J., Savchuk O., Hennig C., Selenska-Pobell S. (2006). Secondary structure and Pd(II) coordination in S-layer proteins from *Bacillus sphaericus* studied by infrared and X-ray absorption spectroscopy. *Biophysical Journal*. 91, 996-1007.
- [6] Gaharwar A. K., Peppas N. A., Khademhosseini A. (2014). Nanocomposite hydrogels for biomedical applications. *Biotechnology and Bioengineering*. 111, 441–453.
- [7] Glassford S.E., Byrne B., Kazarian S.G. (2013). Recent applications of ATR FTIR spectroscopy and imaging to proteins. *Biochimica et Biophysica Acta* 1834, 2849-2858.
- [8] Hoshino Y., Lee H., Miura Y. (2014). Interaction between synthetic particles and biomacromolecules: Fundamental study of non specific interaction and design of nanoparticles that recognize target molecules. *Polymer Journal* 46, 537-545.
- [9] Jankovski U., Merroun M., Selenska-Pobell S., Fahmy K. (2010). S-Layer protein from *Lysinibacillus sphaericus* JG-A12 as matrix for Au<sup>III</sup> sorption and Au-nanoparticle formation. *Spectroscopy*. 24, 177-181.
- [10] Kim J-H., Yoon J-Y. (2002). Protein adsorption on polymer particles. *Encyclopedia of Surface and Colloid Science*.
- [11] Lyon L. A., Serpe M. J. (2012). *Hydrogel Micro and Nanoparticles*. John Wiley & Sons.

[12] Mertig M., Kirsch R., Pompe W., Engelhardt H. (1999). Fabrication of highly oriented nanocluster arrays by biomolecular templating. *Eur. Phys. J. D.* 9, 45.

[13] Mittal V. (2010). *Advanced Polymer Nanoparticles: Synthesis and Surface Modifications*. CRC Press Taylor & Francis Group.

[14] Peruzzo P. J., Anbinder P. S., Pardini O.R., Costa C.A., Leite C.A., Galembeck F., Amalvy J.I. (2010). Polyurethane/acrylate hybrids: Effects of the acrylic content and Thermal treatment on the polymer properties. *J ApplPolymSci*, 5 (116), 2694–2705.

[15] Phoenix D. A. and Ahmed W. (2014). *Nanobiotechnology*. Manchester, U.K.: One Central Press

[16] Rao J.P, and Geckeler K.E. (2011). *Polymernanoparticles: Preparation techniques and size-control parameters*. *Progress in PolymerScience* 36, 887–913.

[17] Sára M., Sleytr U.B., (2000). Biosynthesis and Role of N-Linked Glycosylation in Cell Surface Structures of Archaea with a Focus on Flagella and S Layers. *Bacteriol J.* 182, 859-868.

[18] Vauthier C., Bouchemal K. (2009). *Methods for the preparation and*

*manufacture of polymeric nanoparticles*. *Pharmaceutical Research* 26, 1025-1058.

[19] Wahl R., Mertig M., Raff J., Selenska-Pobell S., Pompe W. (2001). Electron-Beam Induced Formation of Highly Ordered Palladium and Platinum Nanoparticle Arrays on the S Layer of *Bacillusphaericus* NCTC 9602. *Advanced Materials*, 13, 736-740.

[20] Zhao P., Feng X., Huang D., Yang G., Astruc D. (2015). Basic concepts and recent advances in Nitrophenol reduction by gold-and other transition metal nanoparticles. *Coordination Chemistry Reviews* 287, 114-136.

### **Agradecimientos**

Agradecemos al INIFTA, al CINDECA y al Laboratorio de Microbiología de la UNLP por poner a disposición el material y equipamiento para el desarrollo del trabajo.

### **Financiación**

Este trabajo se realizó gracias al financiamiento de CONICET (PIP 0276) y PIO-UNAJ.