

Efecto de diferentes residuos lignocelulósicos en la producción de lacasas por un hongo de pudrición blanca

Marina Montserrat Atilano Camino, Alcione García González^a, Luis H. Álvarez Valencia^a, Refugio Bernardo García Reyes^{a*}

^a División Posgrado, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, Guerrero y Progreso s/n Colonia Treviño, Monterrey, México

*refugio.garciary@uanl.edu.mx

Palabras clave: lacasa, residuo lignocelulósico, hongo de pudrición blanca

Introducción

Las lacasas son un grupo de enzimas que juegan un papel importante en los sistemas ligninolíticos en hongos. Muchos hongos, especialmente los hongos de la pudrición blanca, producen elevadas cantidades de lacasa extracelular ⁽¹⁾. Las lacasas están involucradas en la degradación de la lignina y esta capacidad puede implementarse para la decoloración y remoción de compuestos recalcitrantes presentes en efluentes residuales ⁽²⁾. La producción de lacasas es afectada por distintos factores como la composición del medio, la relación carbono/nitrógeno, pH, temperatura y velocidad de aireación, entre otros ^(3,4,5). Por otra parte, los compuestos aromáticos han sido ampliamente estudiados debido a que provocan un efecto mediador que estimula la producción de lacasas. La naturaleza de los compuestos lignocelulósicos al irse oxidando provocan la formación de compuestos aromáticos que sirven como mediadores e incrementan la actividad de las lacasas ⁽⁶⁾. Además, el uso de residuos lignocelulósicos favorece a la implementación de procesos económicos y amigables con el ambiente ⁽⁶⁾. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de diferentes residuos lignocelulósicos en la producción de lacasa de un hongo de pudrición blanca (HPB).

Metodología

Microorganismo y condiciones de cultivo. La cepa HPB fue aislada en estudio anterior por presentar actividad ligninolítica, esto fue corroborado mediante la oxidación del ácido tánico (reacción Bavendam) ⁽⁷⁾, además por la oxidación del ABTS, sustrato específico para identificar actividad de lacasas. Para su activación, la cepa fue cultivada en medio PDA a 30°C por 12 días. Tres diferentes residuos lignocelulósicos fueron evaluados: salvado de trigo, bagazo de agave y fibras de la cáscara de coco a diferentes concentraciones (3, 4 y 5 g/l). Los residuos fueron triturados durante un minuto utilizando un molino vibratorio, obteniendo un tamaño de partícula de aproximadamente 0.5 mm. Las pruebas se llevaron a cabo en medio líquido a 35 °C y 150 rpm bajo la siguiente composición: glucosa (5 g/l), tartrato de amonio (0.22 g/l), KH₂PO₄ (0.2 g/l), MgSO₄·7H₂O (0.05 g/l), CaCl₂ (0.01 g/l), CuSO₄·7H₂O (0.08 g/l), (NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O (0.05 g/l), MnSO₄·4H₂O (0.07 g/l), ZnSO₄·7H₂O (0.43 g/l), Fe₂(SO₄)₃ (0.05 g/l).

Ensayo para actividad de lacasa. La actividad enzimática de la lacasa fue determinada siguiendo la oxidación del ABTS a 420 nm ($\epsilon = 36,000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$). La mezcla de reacción estaba compuesta por 700 μl de agua bidestilada, 100 μl de buffer acetato (pH 5), 100 μl de ABTS (5 mM) y 100 μl de la muestra. Donde una unidad de actividad enzimática (U) fue definida como la cantidad de enzima requerida para producir 1 μmol de ABTS oxidado por minuto.

Resultados y discusión

La cepa HPB presentó actividad enzimática de lacasa utilizando los tres residuos lignocelulósicos. La actividad máxima se presenta utilizando salvado de trigo como sustrato inductor para la producción de lacasas, siguiendo la fibra de cáscara de coco y, por último, el bagazo de agave. Sin embargo, la mayor cantidad se presentó empleando salvado de trigo como co-sustrato (Fig. 1). La actividad máxima (198.47 U/ml) fue detectada en el día 11 bajo una concentración de 5 g/l de salvado de trigo. De acuerdo a los resultados obtenidos y comparando con otros estudios, la descomposición de los compuestos lignocelulósicos a compuestos más simples fungen como mediadores en diversos hongos de la pudrición blanca lo que induce la producción de elevadas cantidades de lacasa en el medio ^(5,6).

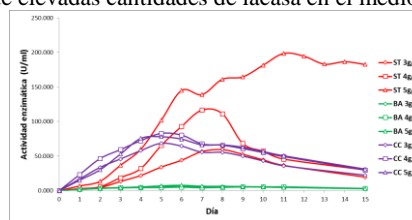


Fig. 1. Cinética de actividad de lacasa utilizando tres residuos lignocelulósicos diferentes por la celda HPB (ST: salvado de trigo, BA: bagazo de agave, CC: cáscara de coco).

Conclusiones

En relación a los resultados presentados en este estudio, el uso de salvado de trigo resultó ser el mejor co-sustrato para la producción de lacasas. Sin embargo, es necesario determinar la factibilidad de usar este co-sustrato a una escala mayor.

Referencias

- Giardina P., Faraco V., Pezzella C., Piscitelli A., Vanhulle S., Sanna G. Laccases: a never-ending story. *Cellular and Molecular Life S* 2010; 67:369–85
- Liu J., Cai Y., Liao X., Huang Q., Hao Z., Hu M., Zhang D., Li Z. Efficiency of laccase production in a 65-L air-lift reactor for potential Green industrial and environmental application. *J of Clean Prod* 2013; 39:154–160
- Hatvani N., Mecs I. Effect of the nutrient composition on dye decolorisation and extracellular enzyme production by *Lentinus edodes* on solid medium. *Enz and Microbial Tech* 2002; 30:381–6
- Levin L., Melignani E., Ramos A.M. Effect of nitrogen sources and vitamins on ligninolytic enzyme production by some white-rot fungi. Dye decolorization by selected culture filtrates. *B Tech* 2010; 101:4554–63
- Rodríguez-Cuoto S., Toca-Herrera J. Laccase production at reactor scale by filamentous fungi. *Biotech Adv* 2007; 25:558–569
- Upadhyay P., Shrivastava R., Kumar A. P. Bioprospecting and biotechnological applications of fungal laccase. *Biotech.* 2016; 6:15
- Bavendam W. Über das Vorkommen und den Nachweis von Oxydasen bei holzzerstörenden Pilzen. *JSTOR.* 1928; 38:257-276