

Efecto de la concentración de cosustrato y del tipo de cofactor en la producción de lacasas con un *Trametes versicolor*

Campos Téllez L. N.¹, Atilano Camino M.M.¹, García Reyes R. B.¹, García González A.^{1*}

¹Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Químicas, Laboratorio de Fisicoquímica de Interfases. Pedro de Alba S/N, Ciudad Universitaria, C.P. 66455, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México.

*e-mail: alcione.garciagn@uanl.edu.mx

Palabras clave: *Trametes versicolor*, lacasas, actividad enzimática, cosustrato, cofactor.

Introducción

Las enzimas ligninolíticas como la lacasa son producidas principalmente por hongos basidomicetos de pudrición blanca como los *Trametes versicolor*. Las lacasas son oxidasa azul multicobre capaces de degradar la lignina y enzimas inespecíficas, esta propiedad les permite degradar una gran variedad de contaminantes como fármacos¹, colorantes², y compuestos fenólicos, especialmente clorofenoles³. Además de tener aplicaciones para el desarrollo de biosensores enzimáticos⁴.

Diversos estudios han demostrado que la adición de cosustratos^{5,6} y la adición de algunos inductores como el sulfato de cobre y magnesio, aumentan la producción enzimática⁵.

Por lo tanto en este trabajo se realizó un diseño experimental 2² con 5 puntos centrales para la evaluación del efecto de la concentración del cosustrato y del tipo de cofactor en la producción enzimática de lacasa a partir de *Trametes versicolor*. Los factores estudiados fueron la concentración de salvado de trigo (cosustrato) y el tipo de cofactor (ZnSO₄, MnSO₄ y CuSO₄), obteniendo como respuestas la actividad enzimática, la concentración de compuestos fenólicos, los azúcares reductores y la proteína extracelular.

Parte experimental

Se realizó la propagación de la cepa *Trametes versicolor* en un medio de extracto de malta. Posteriormente, con inocularon con micelio de la placa las fermentaciones sumergidas para el diseño experimental. Se llevo a cabo un diseño experimental 2² con 5 puntos centrales, en los cuales se evaluó la concentración de salvado de trigo a diferentes niveles (5, 10, 15 g/L) y el tipo de cofactor usando tres sales diferentes (ZnSO₄, MnSO₄, CuSO₄).

Las fermentaciones sumergidas se llevaron a cabo en medio modificado de Kirk, con la adición del cosustrato y el cofactor correspondiente a cada corrida. Las respuestas medidas en el diseño de experimentos fueron actividad enzimática⁷ (utilizando 3-etilbenzotiazolina 6-ácido sulfónico, ABTS⁹ como sustrato de la reacción enzimática), azúcares reductores (método de Miller⁸), proteína extracelular (método de Bradford⁹) y compuestos fenólicos (método de Folin¹⁰). Todas las técnicas de medición fueron colorimétricas y se leyeron en un espectrofotómetro de UV-Vis Thermo Genesys 10S, a la longitud de onda correspondiente para cada determinación.

Resultados y discusión

Los resultados obtenidos del diseño de experimentos muestran que la mejor actividad enzimática se obtuvo con

(1400 U/mL) con la concentración de 15 g/L de salvado de trigo y con el tipo de cofactor de CuSO₄ (ver Figura 1). El factor que fue significativo para la actividad enzimática fue el tipo de cofactor no hubo interacción entre los factores.

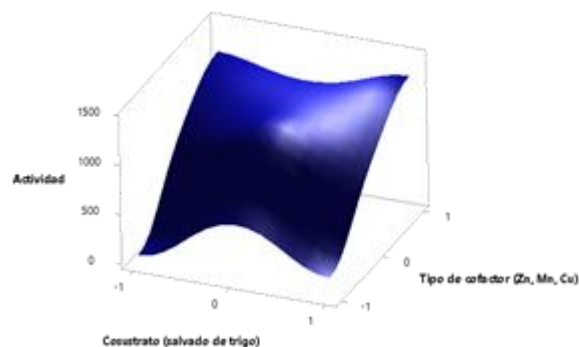


Figura 1. Superficie de respuesta de actividad enzimática.

Para la respuesta de la proteína extracelular, se observa que mantiene una tendencia positiva, y que está correlacionada con la producción enzimática. En caso de los compuesto fenólicos la concentración aumenta con el tiempo, lo que indica una liberación de estos derivada de la degradación del salvado de trigo, sin embargo la fermentación que contenía ZnSO₄ como cofactor, mostró una concentración mucho mayor que los otros.

La concentración los azúcares reductores por otro lado fue contraria, en una tendencia en declive, indicando el consumo de la fuente de carbono generado con el crecimiento del *Trametes versicolor*. Durante la fermentaciones se midió el sin el pH, sin embargo no se observó ningún cambio significativo.

Conclusiones

- El diseño de experimentos mostró que el tipo de cofactor influye significativamente en la producción de la enzima lacasa.
- La actividad enzimática máxima se encontró con 15

g/L de salvado de trigo y CuSO_4 como cofactor.

- Las respuestas de azúcares y pH no se ven afectadas de manera significativa con estos los dos factores evaluados.
- En cambio, variando la concentración de salvado de trigo es significativo para las respuestas de compuestos fenólicos y proteína extracelular.

Agradecimientos

Agradecimiento a la Facultad de Ciencias Químicas por las facilidades dadas para realizar este proyecto, así como al proyecto PAICYT 2015 Clave: IT395-15.

Referencias

1. Enriquez, F. A.; Camarillo, D.; Loera, O.; González, I.; Chan, W.; Rodríguez, C. O.; AMICA 2015, 3-4.
2. Rodríguez, E.; Pickard, M.; Vazquez-Duhalt, R; CM 1999, **38**, 27-32.
3. Liu, Y.; Zeng, Z.; Zeng, G.; Tang, L.; Pang, Y.; Li, Z.; Liu, C.; Lei, X.; Wu, M.; Ren, P.; Liu, Z.; Chen, M.; and Xie, G.; B. T. 2012, **115**, 21–26.
4. Garnica Romo, M.G.; Ortiz Lara, F.; Martínez Flores, H. E.; UMSNH 2010, 2-5.
5. Sandoval, N. M.; Tesis de licenciatura, Pontificia Universidad Javeriana, 2008.
6. Manjarrés, K.; Castro, A.; Rodríguez Sandoval, E.; LDI, 2010, **7**, 9-15.
7. Ramírez, L. A.; Tesis de maestría. Universidad Autónoma de Nuevo León. 2014.
8. Miller, G.; A.C. 1959, **31**, 426-428.
9. Bradford, M.M.; A. B. 1976, **72**, 248-254.
10. Singleton V. L.; Orthofer R.; Lamuela-Raventos R. M.; M. E. 1999, **299**, 152-178.