

### EFECTO DEL pH DEL MEDIO DE CULTIVO LIQUIDO SOBRE LA PRODUCCIÓN DE LACASAS DE *Pleurotus ostreatus*

Díaz-Godínez R<sup>1</sup>, Bibbins-Martínez M<sup>2</sup>, Rojas-López M<sup>2</sup>, Sánchez C<sup>1</sup>, Díaz-Godínez G<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Centro de Investigación en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala, Km 10. 5 Aut. Tlaxcala-Tezmelucan, Ixtacuixtla Tlaxcala. México. Tel/Fax +52 2484815482, email: [diazgdo@hotmail.com](mailto:diazgdo@hotmail.com)

<sup>2</sup>Centro de Investigación de Biotecnología Aplicada, IPN. Tlaxcala, México.

Palabras clave: *Pleurotus*, *Lacacas*, Fermentación

**Introducción.** Las enzimas lacasas catalizan la oxidación, polimerización, depolimerización, metilación y/o dimetilación de compuestos fenólicos. Tienen un uso potencial en diversos procesos de biorremediación (1), sin embargo, es necesario que estas enzimas presenten altas capacidades catalíticas en condiciones extremas de pH y temperatura, ya que la mayoría de los efluentes contaminantes presentan estas características. Se ha reportado que la producción de lacasas depende de la especie del organismo productor y de sus condiciones de desarrollo (2). En este trabajo, se evaluó el efecto del pH inicial del medio de cultivo líquido sobre la producción de lacasas de *Pleurotus ostreatus*.

**Metodología.** Se realizaron tres fermentaciones en matraces Erlenmeyer de 125 ml con 50 ml de medio de cultivo a 25 °C por 23 días en agitación orbital de 120 rpm (3, 4), el pH inicial se ajustó a 3.5, 4.5 y 6.5, respectivamente. Se inocularon con tres fragmentos de micelio de 4 mm de diámetro obtenidos de la periferia de una colonia desarrollada sobre EMA por 7 días a 25 °C. Se muestreó cada 24 h. Se cuantificó en el extracto la concentración de proteína y la actividad de lacasas a pH de 3.5, 4.5 y 6.5, utilizando 2,6-dimetoxifenol (DMP) como sustrato, la actividad de lacasas (U) se consideró como la cantidad de enzima que provoca un incremento de 1 unidad de absorbancia por minuto bajo las condiciones de ensayo (3, 4). Todos los experimentos y análisis se realizaron por triplicado.

**Resultados y discusión.** La Tabla 1 muestra los valores máximos de actividad obtenida en cada fermentación evaluada a tres diferentes pH's. La actividad de las lacasas producidas a pH de 3.5 fue baja, pero mas o menos constante en los tres pH's evaluados. Las lacasas producidas a pH 4.5 mostraron elevada actividad en los tres diferentes pH's. Cuando la fermentación se realizó a un pH de 6.5, sólo a ese pH, la actividad fue muy alta en comparación con lo observado en los otros 2 pH's evaluados. La Fig. 1 muestra el perfil de actividad de lacasas a los diferentes pH's evaluados. A pH de 3.5, la actividad fue baja y constante a lo largo de la fermentación (aprox. 4000 U/L), a pH de 4.5 se obtuvo muy baja actividad hasta las 336 h de fermentación, logrando actividades de hasta 31440 U/L en las últimas h del cultivo. En el caso de la fermentación a pH 6.5, la actividad se presentó poco después de las 200 h de fermentación y mostró los valores mayores alrededor de las 400 h (aprox. 36490 U/L).

Tabla 1. Actividad máxima de lacasas (U/L) producida y evaluada en tres diferentes pH's.

pH del medio de cultivo	pH de evaluación de la actividad		
	3.5	4.5	6.5
3.5	3518	2817	3183
4.5	33350	31440	30120
6.5	2453	689	36490

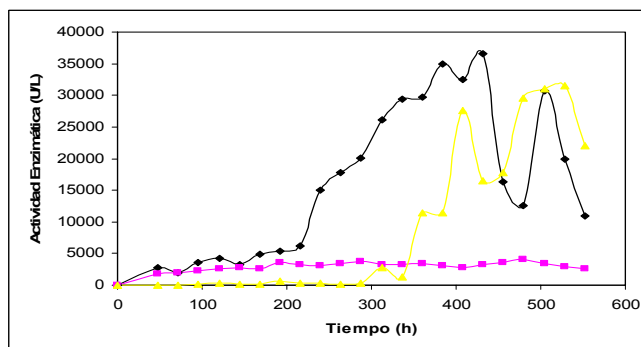


Fig. 1 Actividad de lacasas producida a pH de 3.5 (■), 4.5 (▲) y 6.5 (◆)

**Conclusión.** Estos resultados sugieren que el hongo produce isoformas con diferente pH óptimo de actividad cuando se producen a pH de 6.5, y que las enzimas producidas a pH 4.5 podrían utilizarse en descargas industriales donde los pH's son extremos.

**Agradecimientos.** CONACYT proyecto (47396), UAT y CIBA-IPN.

#### Bibliografía.

- Galhaup C, Goller S, Peterbauer C, Strauss J y Haltrich D. 2002. Characterization of the major laccase isoenzyme from *Trametes pubescens* and regulation of its synthesis by metal ions. *Microbiol.* 148:2159-2169.
- Giardina P, Palmieri G, Scaloni A, Fontanella B, Faraco V, Cennamo G y Sannia G. 1999. Protein and gene structure of a blue laccase from *P. ostreatus*. *Biochem. J.* 341:655-663.
- Télez-Télez M, Fernández J. F., Montiel-González A. M., Sánchez C. y Díaz-Godínez G. 2008. Growth and laccase production by *Pleurotus ostreatus* in submerged and solid-state fermentation. *App. Microbiol. Biotechnol.* 81:675-679.
- Tlecuítl-Beristain S, Sánchez C, Loera O, Robson GD y Díaz-Godínez G. 2008. Laccases of *Pleurotus ostreatus* observed at different phases of its growth in submerged fermentation: production of a novel laccase isoforms. *Mycol. Res.* 112:1080-1084.