

Determinación de las propiedades cinéticas de un electrodo biocomposito de lacasa (*Trametes versicolor*) y su aplicación en la caracterización del antioxidante resveratrol

María de los Angeles Castro, Gustavo Viniegra, Ignacio González
Departamento de Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa. Av. San Rafael Atlixco No. 186, Colonia Vicentina, D. F. 09340, México. Fax 58044800
E-mail: ang@xanum.uam.mx

Palabras clave: lacasa, biosensor, resveratrol

Introducción. La lacasa (EC 1.10.3.2) es una fenol oxidasa con sitios activos de cobre; enzima que se considera, una herramienta biológica útil, para ser aplicada en procesos biotecnológicos; debido a sus propiedades catalíticas y habilidad para oxidar substratos fenólicos y no fenólicos, con la reducción simultánea de O₂ a H₂O (1, 2). A partir de procesos electroquímicos, desde los años 90's, se han desarrollado biosensores con fenol oxidasas incluidos los biocompositos (3). Actualmente, considerando las ventajas que ofrecen estos dispositivos, se investiga su aplicación en diversas áreas; entre ellas, se encuentra la detección de antioxidantes como el resveratrol, un compuesto fenólico que actúa protegiendo a las membranas y al DNA celular de los daños ocasionados por los radicales libres que inducen la oxidación (4). El resveratrol ha sido detectado en vinos; principalmente con técnicas analíticas tradicionales, sin embargo, la medición electroquímica orientada a la cuantificación y determinación de parámetros fisicoquímicos de los antioxidantes cobra mayor relevancia para la evaluación de estas propiedades en los polifenoles. Por otra parte, el mecanismo de oxidación electroquímica del resveratrol, se ha reportado solamente con electrodos de pasta de carbón (4).

En este trabajo se construyeron biocompositos con lacasa determinando las propiedades cinéticas con respecto a la enzima libre, y se emplearon en la detección electroquímica de resveratrol.

Metodología. Los biocompositos se fabricaron siguiendo el procedimiento de Alegret *et al* (3), con proporciones de lacasa de 2, 10, 15 y 20% p/p, con grafito-resina epóxica. Se realizó la caracterización electroquímica del biocomposito aplicando voltamperometría cíclica y se determinaron las propiedades catalíticas (actividad y k_{cat}), a través de espectrofotometría ultravioleta visible. El biocomposito se utilizó para caracterizar electroquímicamente al resveratrol.

Resultados y discusión. Los resultados óptimos se obtuvieron con el 10% de enzima. Los procesos redox asociados al sitio activo T2/T3 se identificaron con $E_{1/2}=0.204$ V/Ag/AgCl/KCl_{sat}. Los valores de actividad fueron 3000 y 13358 U mg⁻¹, con k_{cat} 47 y 99 min⁻¹, para la enzima libre y el biocomposito, respectivamente, este

último resultó más eficiente. La utilidad del biocomposito se evaluó al lograr identificar un proceso de oxidación irreversible del resveratrol (Figura 1), con $E_{pa}= 0.592$ y 0.680 V/Ag/AgCl/KCl_{sat}, para el blanco y con enzima al 10%.

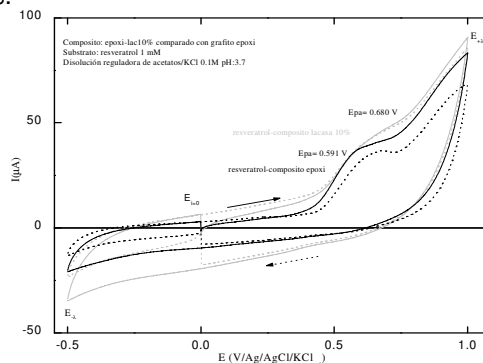


Figura 1. Voltamperogramas típicos de resveratrol 1 mM empleando los compositos libre de lacasa, y-lacasa 10%, en disolución reguladora de acetatos 0.1 M pH 3.7, barridos en sentidos positivo (—) y negativo (---).

Conclusiones. En este trabajo se construyó un biocomposito con lacasa y se identificaron los procesos redox asociados a la enzima. El comportamiento cinético mostró que el biocomposito fue catalíticamente más eficiente, la identificación de la oxidación del resveratrol confirmó la utilidad del biocomposito para caracterizar a este antioxidante.

Bibliografía

1. Mayer A. M. y Staples R. C. (2002). Laccase: new functions for an old enzyme. *Phytochem.* 60: 551-565.
2. Scheller F. W., Wollenberger U., Warsinke A., y Lisdat F. (2001). Research and development in biosensors. *Curr. Opin. Biotechnol.* 12: 35-40.
3. Alegret S. (1996). Rigid carbon-polymer biocomposites for electrochemical sensing. *The Analyst.* 121: 1751-1758.
4. Zhang H., Xu L., y Zheng J. (2007). Anodic voltammetric behavior of resveratrol and its electroanalytical determination in pharmaceutical dosage form and urine. *Talanta.* 71: 19-24