

ESTUDIO CINETICO DEL CRECIMIENTO Y PRODUCCION DE LACASAS POR *Pleurotus ostreatus* CP50 EN UN MEDIO ADICIONADO DE COBRE Y LIGNINA.

Abisai Acevedo, Raunel Tinoco, Enrique Galindo y Leobardo Serrano-Carreón

Unidad de Escalamiento y Planta Piloto, Instituto de Biotecnología, UNAM. Av. Universidad 2001, Col. Chamilpa, Cuernavaca, Mor. E-mail: raunel@ibt.unam.mx

Palabras clave: *Lacasas, Pleurotus ostreatus, Diseño experimental*

Introducción. La producción de lacasas por hongos basidiomicetos está fuertemente influenciada por las condiciones de cultivo. En estos hongos las lacasas extracelulares se producen constitutivamente en pequeñas cantidades. Sin embargo, su producción puede estimularse por la presencia de inductores como los compuestos fenólicos derivados de la lignina. La presencia de cobre tiene un efecto muy importante en la formación de lacasas, especialmente cuando se adiciona durante la fase exponencial de crecimiento. La naturaleza y concentración de las fuentes de carbono y de nitrógeno tienen también un fuerte impacto (Baldrian, P. 2005).

El objetivo del presente trabajo fue desarrollar y evaluar un proceso de fermentación en dos etapas para la producción de lacasas. La primera etapa permite estimular la producción de biomasa para posteriormente inducir la sobreproducción de estas enzimas utilizando CuSO₄ y/o lignina soluble.

Metodología. Se utilizó la cepa CP50 de *P. ostreatus*, la cual se emplea para producir setas comercialmente. Esta cepa se cultivó en el medio de cultivo basal (extracto de malta 2%), en matraces EM de 500 mL con 100 mL de medio a 29°C y 150 rpm. La actividad enzimática se midió en un espectrofotómetro usando ABTS como sustrato. La concentración de biomasa se midió gravimétricamente. Se utilizó el software Design Expert 5 para realizar el diseño experimental 2⁶⁻² y análisis estadístico. Se evaluaron 3 fuentes de carbono (glucosa, xilosa y glicerol) y 3 fuentes complejas de nitrógeno (extracto de levadura, triptona y peptona), posteriormente se evaluaron 2 inductores de la síntesis de lacasas (Cu y lignina).

Resultados y discusión.

En la Tabla 1 se muestra la composición de los 16 medios del diseño experimental, así como los resultados de la producción máxima de biomasa y de lacasas. En el medio 4 se produjo una alta concentración de biomasa (9.8 g/L) y la síntesis de lacasas no se reprimió. Igual condición se observó para el medio 12. El perfil de las dos isoformas de lacasas producidas fue diferente en los medios 1, 9 y 10. En éstos solo se sintetizó la lacasa *Lcs2* de 27 KDa. En el resto, se observaron las dos lacasas que sintetiza esta cepa de *P. ostreatus* (*Lcs1* de 44 KDa y *Lcs2*). Se seleccionó el medio 4, con el cuál, se diseñó un experimento factorial para estudiar los efectos de inducción. Los inductores se adicionaron a la mitad de la fase exponencial de crecimiento y se evaluó a

diferentes concentraciones de lignina y cobre (Fig. 1). Con la interacción cobre-lignina se produjo una alta concentración de lacasa (12.2 U/ml).

Tabla 1. Producción de lacasas y de biomasa por *P. ostreatus* CP50 en los 16 medios de cultivo del diseño experimental

Medio	Fuentes de Nitrógeno (g/L)			Fuentes de carbono (g/L)			Biomasa (mg/mL)	Lacasa (U/mL)
	Peptona	E. Lev	Triptona	Xilosa	Glicerol	Glucosa		
Basal	0	0	0	0	0	0	2.5	0.5
1	5	5	5	0	0	0	6.8	0.6
2	10	5	5	0	10	0	10.0	0.6
3	5	10	5	0	10	10	9.4	0.6
4	10	10	5	0	0	10	9.8	1.2
5	5	5	10	0	10	10	8.2	0.7
6	10	5	10	0	0	10	9.7	0.7
7	5	10	10	0	0	0	5.6	0.7
8	10	10	10	0	10	0	6.9	1.1
9	5	5	5	10	0	10	7.0	0.7
10	10	5	5	10	10	10	7.0	1.0
11	5	10	5	10	10	0	7.5	1.0
12	10	10	5	10	0	0	7.0	1.2
13	5	5	10	10	10	0	7.2	1.0
14	10	5	10	10	0	0	7.0	1.1
15	5	10	10	10	0	10	7.1	1.0
16	10	10	10	10	10	10	7.1	1.4

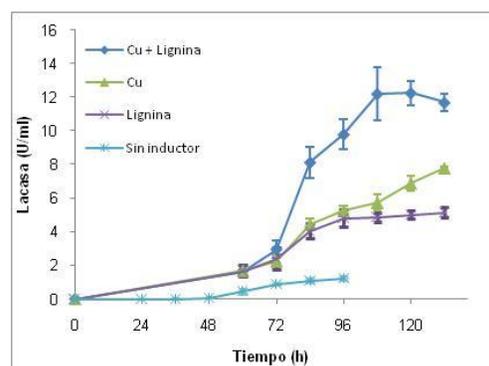


Fig. 1. Cinética de producción de lacasas por *P. ostreatus* CP50 en medio 4, inducido a las 60 h con cobre, lignina o ambos.

Conclusiones. El enriquecimiento del medio de cultivo basal con fuentes complejas de nitrógeno y glucosa promovió la formación de biomasa de 2.5 a 10 mg/mL y de lacasas de 0.5 a 1.4 U/mL. La adición de inductores a la mitad de la fase exponencial de crecimiento estimuló la producción de lacasas hasta 12 U/mL

Agradecimiento. Este trabajo fue financiado por DGAPA IN-210107 y DGAPA IN-217909.

Bibliografía. Baldrian, P. (2006). Fungal laccases-occurrence and properties. *FEMS Microbiol Rev* 30: 215-242.