



INMOVILIZACION DE HONGOS LIGNOLITICOS NATIVOS EN REDES POLIMERICAS DE QUITOSAN-PECTINA

Fernando Hernández-Terán, Ma. Guadalupe Rojas Verde, Ma. del Socorro Flores González, Katiushka Arévalo Niño. Instituto de Biotecnología. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León. Av. Manuel L. Barragán y Pedro de Alba. San Nicolás de los Garza, N. L. Fax. (81) 8376-2813. karevalo@fcb.uanl.mx

Palabras clave: Inmovilización, lignolítico, lacasa.

Introducción. La inmovilización de biocatalizadores, en ciertos procesos, es una estrategia esencial para incrementar la actividad y estabilidad de los sistemas enzimáticos *ex vivo* e *in vitro*. Se han utilizado una gran variedad de materiales, orgánicos e inorgánicos, como soportes de inmovilización. Los biopolímeros, como la pectina y quitosán, se han utilizado ampliamente como soportes inertes, obteniéndose resultados importantes. Los hongos lignolíticos pertenecen a diferentes géneros de ascomicetos, algunos deuteromicetos y principalmente basidiomicetos. Los basidiomicetos degradan activamente la lignina, usando enzimas extracelulares como peroxidasas y lacasa (1). La lacasa (benzenodiol: oxígeno oxidoreductasa, E. C. 1. 10. 3.2) muestra actividad sobre diversos sustratos, cataliza la oxidación de unidades de lignina fenólica, otros compuestos fenólicos y no fenólicos, así como aminas aromáticas. Las propiedades de las lacasas fúngicas son potencialmente aplicables en procesos biotecnológicos para la biorremediación de efluentes y suelos contaminados con algunas especies de colorantes sintéticos y compuestos fenólicos, producto de la actividad industrial, así como en procesos compatibles con el medio ambiente (2).

El presente trabajo tuvo como objetivo la inmovilización de hongos basidiomicetos nativos del estado de Nuevo León, con actividad de lacasa, en redes poliméricas de quitosán-pectina.

Metodología. Se comprobó la actividad de lacasa de dos cepas de hongos (M2 y M12) basidiomicetos nativos en un ensayo en placa, conteniendo el sustrato ABTS [2, 2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonato)]. Se obtuvo micelio en cultivo sumergido, se homogeneizó en una licuadora, se filtró y se mezcló en una solución de pectina (34% esterificación) para su inmovilización por gelificación ionotrópica, por goteo, en una solución entrecruzante de CaCl₂ y quitosán (85% desacetilación). El hongo inmovilizado se incubó en matraz Erlenmeyer conteniendo glucosa, extracto de levadura, sales, minerales y CuSO₄ como inductor, a 30°C y 150 rpm. Se determinó la actividad de la lacasa en el sobrenadante de los cultivos, por reacción con el sustrato ABTS, cada 48 h, por espectrofotometría (A₄₀₆). Se probaron nueve formulaciones del complejo pectina-hongo: tres concentraciones de pectina (0.5, 1.5 y 2.5%) combinadas con tres concentraciones de micelio (1, 1.5 y 2%) para

cada cepa. Como controles se incluyeron las diferentes formulaciones de pectina, y el hongo sin inmovilizar, en cultivos independientes.

Resultados y discusión. La inmovilización del hongo, resultó en estructuras esféricas de aproximadamente 0.5 cm de diámetro. Cinco de las nueve formulaciones poliméricas, conteniendo el hongo M2, presentaron actividad de lacasa a niveles que variaron de 7000 a 11500 UI/L. La formulación que presentó mayor actividad, para este hongo, fue la constituida por 1.5% de pectina y 2% de biomasa, alcanzando una máxima actividad de 11500 UI/L. El hongo libre mostró una actividad muy superior (55000 UI/L) con respecto al inmovilizado. Por otro lado, a diferencia del hongo M2, el hongo M12 presentó actividades considerablemente menores que variaron entre 47 y 156 UI/L. El valor máximo de actividad alcanzado por este hongo fue en la formulación de 2.5% de pectina y 1% de biomasa. Por otro lado, el micelio libre presentó una pobre actividad de solo 30 UI/L en su punto máximo. Lo que significa que para este hongo la inmovilización favorece la producción y/o estabilidad de la lacasa. En la mayoría de las formulaciones se observó la capacidad de los hongos para colonizar la red polimérica. En general, observamos que la actividad de lacasa se incrementa en la medida de la capacidad del hongo para colonizar la red polimérica. Las esferas, conteniendo el hongo inmovilizado, mantuvieron su integridad estructural durante el cultivo, factor importante para su aplicación en biorreactores.

Conclusiones. El hongo M2 presentó mayor actividad de lacasa que el hongo M12, bajo las condiciones de inmovilización ensayadas. En relación a la actividad de que presentaron los hongos libres, fue menor para la cepa M2 en condiciones inmovilización, mientras que para la cepa M12 dicha actividad se ve favorecida.

Agradecimientos. Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT). Becario 209445.

Bibliografía. 1. Cho, N-S., Cho, S-Y., Shin, S-J., Choi, Y-J., Leonowicz, A., Ohga, S. Production of fungal laccase and its immobilization and stability. (2008). *J. Fac. Agr., Kyushu Univ.* 53 (1): 13-18.
2. Rodríguez, E., Nuero, O., Guillén, F., Martínez, A., Martínez, M. (2004). Degradation of phenolic and non-phenolic aromatic pollutants by the Pleurotus species: the role of laccase and versatile peroxidase. *Soil Biol. Biochem.* 36: 909-916.