



CRECIMIENTO, ACTIVIDAD ENZIMÁTICA Y PERFIL ZIMOGRÁFICO DE LACASAS DE *PLEUROTUS OSTREATUS* CRECIDO EN MEDIO LIQUIDO CONTENIENDO DI (2-ETILHEXIL) FTALATO

José Luis Torres², Binicio Ramirez-Mendoza³, Roberto Cervantes-Badillo³, Daniel Claudio Martínez-Carrera⁴, Rubén Díaz¹, Gerardo Díaz-Godínez¹ y Carmen Sánchez¹; ¹Laboratorio de Biotecnología, Centro de Investigación en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala, Tlaxcala CP 90120. ²Maestría en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala, Tlaxcala CP 90120. ³Licenciatura en Biología, Universidad Autónoma de Tlaxcala. ⁴Colegio de Posgraduados, Campus Puebla, Puebla. sanher6@hotmail.com

Palabras clave: Di (2-etilhexil) ftalato, Perfil zimográfico, *Pleurotus ostreatus*

Introducción. Los ftalatos son diésteres aromáticos derivados del ácido *o*-ftálico o del ácido *t*-ftálico, ampliamente utilizados como plastificantes. El di (2-etilhexil) ftalato (DEHF) se ha utilizado durante más de 70 años como aditivo en muchos productos, como plásticos, pinturas y tintas, o como disolvente en formulaciones industriales (1). El hongo ligninocelulolítico *Pleurotus ostreatus*, presenta un sistema enzimático único y no específico extracelular siendo las enzimas lacasas las principales enzimas encargadas de la degradación de la lignina y otros compuestos orgánicos estructuralmente relacionados a los ésteres de ftalato (2).

El objetivo de este trabajo fue evaluar el crecimiento, la actividad enzimática y perfil zimográfico de lacasas producidas por *P. ostreatus* crecido sobre DEHF en medio líquido.

Metodología. Se utilizó la cepa *P. ostreatus* 50 (del cepario del COLPOS, Puebla). Se prepararon tres medios de cultivo, 1) Medio sin adición de ftalato (MSAF), 2) MSAF + 500 mg de DEHF/L y 3) MSAF + 1000 mg de DEHF/L. El pH se ajustó a 6.5 usando NaOH 1M. Para las fermentaciones líquidas se emplearon matraces de 125 ml conteniendo 50 ml de cada medio de cultivo y se inocularon con 3 fragmentos de micelio de 10 mm de diámetro, se incubaron a 28 °C durante 23 d a 120 rpm. La velocidad específica de crecimiento (μ) y la biomasa máxima obtenida (X_{max}) fueron calculadas empleando la ecuación logística. La actividad enzimática de lacasas fue evaluada utilizando 2,6 dimetoxifenol (DMP) como sustrato y se leyó a una absorbancia de 460 nm (3). El rendimiento teórico de la enzima con respecto a la biomasa (YE/X) se estima como la relación entre la E_{max} (U/L) y X_{max} (g/L). De igual manera se calculó el rendimiento de la biomasa con respecto al sustrato (YX/S) empleando la X_{max} y la concentración de la fuente de C_2 . Se calcula la productividad en el pico máximo de actividad ($PRO = E_{max} / \text{tiempo de fermentación}$), además de la tasa específica de formación de la enzima ($q_p = \mu YE/X$).

Resultados. En la Figura 1a se muestra el crecimiento de *P. ostreatus* mostrando una X_{max} y una μ máxima en el medio de cultivo conteniendo 1000 mg de DEHF/L (Tabla 1). Con respecto al perfil de pH, se observa en los medios conteniendo DEHF que disminuye consecuentemente obteniendo pH cerca de 4.5 y 4 (Fig. 1b). En la Figura 2 se muestra la actividad enzimática de lacasas máxima obtenida, mostrando valores de 8973

U/L y 7962 U/L respectivamente en el medio conteniendo 1000 y 500 mg de DEHF/L. Los parámetros cinéticos se muestran en la Tabla 1 obteniendo mayores resultados en el medio conteniendo 1000 mg de DEHF/L.

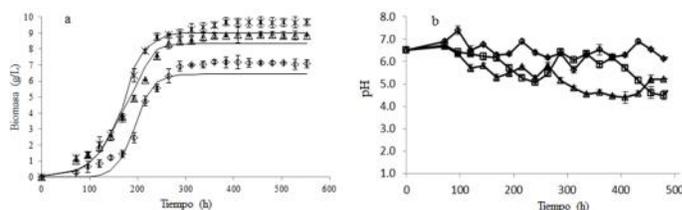


Fig. 1. Crecimiento (a) y perfil de pH (b) de *P. ostreatus* crecido en MSAF (), 500 () y 1000 (x) mg de DEHF/L en medio líquido.

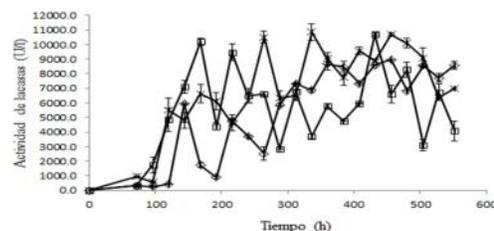


Fig. 2. Actividad enzimática de lacasas de *P. ostreatus* crecido en MSAF (), 500 () y 1000 (x) mg de DEHF/L en medio líquido.

Tabla 1. Parámetros cinéticos de crecimiento y producción de lacasas de *P. ostreatus* crecidos sobre DEHF en medio líquido.

Parámetro	Concentración DEHF (mg/L)		
	MSAF	500	1000
X_{max} (g/L ⁻¹)	6.87	8.34	9.56
μ (h ⁻¹)	0.019	0.017	0.018
E_{max} (U/L ⁻¹)	6,748	7,892	8,973
$Y_{X/S}$ (gX/gS ⁻¹)	0.61	0.77	0.89
$Y_{E/X}$ (U/gX ⁻¹)	1,102.6	1,019	1001.4
P_{RO} (U/L ⁻¹ h ⁻¹)	20.08	16.44	18.69
q_p (U/h ⁻¹ hX ⁻¹)	20.94	17.32	18.02

Conclusiones. Los mayores parámetros cinéticos se obtuvieron en el medio conteniendo la concentración mayor de ftalato. Los perfiles de pH nos indican la formación de ácidos orgánicos. La actividad enzimática incremento conforme aumentó la concentración de DEHF.

Agradecimiento. Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca número 489259 otorgada a JLTG para la realización de la MCB.

Bibliografía.

- Liang D, Zhang T, Herbert H, He J. (2008). Phthalates biodegradation in the environment. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 80: 183-198.
- Sánchez, C. (2009). Lignocellulosic residues: biodegradation and bioconversion by fungi. *Biotechnol. Adv.* 27(2): 85-194.
- Díaz R, Téllez-Téllez M, Sánchez C, Bibbins-Martínez MD, Díaz-Godínez G, Soriano-Santos J. (2013). Influence of initial pH of the growing medium on the activity, production and genes expression profiles of laccase of *Pleurotus ostreatus* in submerged fermentation. *Electron J. Biotechnol.* 16 (4).