



DEGRADACIÓN DE PLAGUICIDAS POR EL SISTEMA LACASA-MEDIADOR DE *Coriopsis gallica*

Cristina Torres-Duarte, Blanca Bernal, Rosa Román, Rafael Vázquez-Duhalt.

Instituto de Biotecnología-UNAM. Av. Universidad 2001, Col. Chamilpa. Cuernavaca, Morelos, México. CP 62210.

Fax: 777-3172388. ctorresd@ibt.unam.mx

Palabras clave: lacasa, mediador, plaguicida.

Introducción. Los hongos ligninolíticos mineralizan la lignina basados en la producción de radicales libres, principalmente por medio de las enzimas extracelulares lignino peroxidasa, manganoso peroxidasa y lacasa. Se ha probado la eficiencia de estas enzimas en la degradación de hidrocarburos poliaromáticos (PAHs), fenoles clorados, plaguicidas y otros compuestos de interés ambiental (2).

La lacasa cataliza procesos de polimerización o depolimerización a través del mecanismo de transferencia de electrones del sustrato al oxígeno que es reducido a agua, lo que le confiere una ventaja sobre las otras enzimas que requieren de peróxido para funcionar (3). Sin embargo, debido al bajo potencial redox de la lacasa (entre 0.7 y 0.8), el rango de sustratos es pequeño. Su actividad se puede expandir hacia compuestos más difíciles de oxidar usando mediadores. Un mediador puede ser una molécula pequeña de bajo peso molecular que actúa como una especie de lanzadera de electrones: una vez que es oxidado por la enzima, se difunde lejos del sitio catalítico y a su vez, oxida cualquier sustrato que, debido a su tamaño, no podría entrar directamente al sitio catalítico. Dependiendo de la estructura química, los mediadores actúan por medio de los mecanismos (i) Por transferencia de electrones, (ii) por transferencia de hidrógeno radical, para los sustratos que son más difíciles de oxidar, (iii) por medio de una oxidación iónica (1).



Figura 1. Ciclo catalítico de un sistema de oxidación lacasa-mediador.

Dada la importancia de este mecanismo, se pretende descubrir nuevos mediadores para la degradación de plaguicidas y entender los mecanismos de acción de los mismos para poder ser aplicados a procesos de degradación de contaminantes.

Metodología. Se utilizó lacasa purificada de *Coriopsis gallica* en una solución buffer de acetatos 100 mM a pH 4.5, y 20% de acetonitrilo. Las reacciones (1 mL) se llevaron a cabo a temperatura ambiente con concentraciones 200 μ M de plaguicida, 10 U de enzima y cantidades variables de mediador. Después de 10 min se midió la degradación del plaguicida por HPLC. Se ensayaron distintos mediadores entre ellos siringaldehído, TEMPO y ABTS, en combinación con diferentes plaguicidas aromáticos. Para determinar los productos de degradación, se escaló la reacción a volumen de 100 mL

utilizando siringaldehído como mediador a una concentración 1 mM. Se dejó reaccionar por 2 horas y se hizo la extracción con diclorometano. El extracto se secó con sulfato de sodio y el diclorometano se evaporó en el rotavapor. Para analizar las muestras por espectrometría de masas, se resuspendió en diclorometano.

Resultados. De los distintos mediadores probados, la actividad de la enzima fue mejor con siringaldehído, acetosiringona y TEMPO (Figura 2). Con los mediadores ácido cinámico, ABTS y HBT, la actividad fue muy baja, y con vainillina y alcohol coniferil, no se obtuvo degradación.

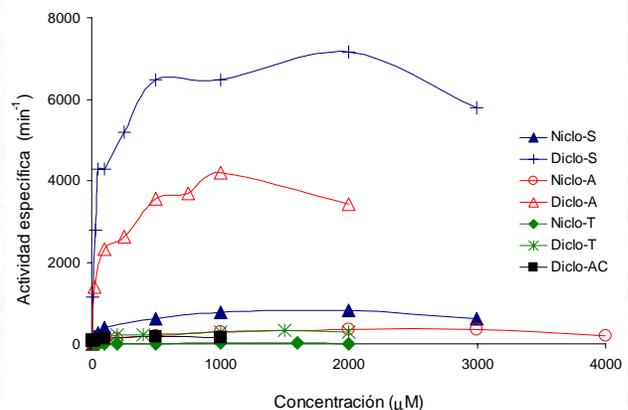


Figura 2. Actividad de lacasa en la degradación de los plaguicidas niclosamida (Niclo) y diclorofeno (Diclo), utilizando los mediadores siringaldehído (S), acetosiringona (A), TEMPO (T) y ácido cinámico (AC).

El siringaldehído se seleccionó para hacer las reacciones en volúmenes mayores dado que la actividad de la enzima fue mayor con este mediador. Se determinó la naturaleza química de los productos de degradación de diferentes plaguicidas.

Bibliografía.

- (1) Fabbrini M, Galli C, Gentili P. 2002. Comparing the catalytic efficiency of some mediators of laccase. *J. Mol. Cat. B: Enzymatic*. 16: 231-240.
- (2) Pointing SB. 2001. Feasibility of bioremediation by white-rot fungus. *App. Microbiol. Biotechnol*. 57: 20-33.
- (3) Valderrama B, Oliver P, Medrano-Soto A, Vazquez-Duhalt R. 2003. Evolutionary and structural diversity of fungal laccases. *Antonie van Leeuwenhoek*. 84: 289-299.