



OXIDACION DE BaP CON LACASA PROVENIENTE DE LA COMPOSTA RESIDUAL DE *Agaricus bisporus*.

Karla Mayolo-Deloisa^{1,3}, Constanza Machín-Ramírez^{1,3}, Marco Rito-Palomares² y Ma. del Refugio Trejo-Hernández¹.

¹Centro de Investigación en Biotecnología y ³Fac. de Ciencias Químicas e Ingeniería de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Av. Universidad 1001, Col. Chamilpa. C.P. 62209. Cuernavaca, Morelos. Fax (777) 3297030.

²Departamento de Biotecnología e Ingeniería de Alimentos & Centro de Biotecnología. Tecnológico de Monterrey, Campus Monterrey. kdeloisa@uaem.mx.

Palabras clave: Benzo(a)pireno, lacasa, sistemas de dos fases acuosas.

Introducción. Los Hidrocarburos Poli aromáticos (HPAs) son compuestos mutagénicos y carcinogénicos, altamente recalcitrantes que tienden a bioacumularse en el medio ambiente por lo que representan un alto riesgo para la salud debido a su alta toxicidad[1]. Entre HPAs más tóxicos se encuentra el benzo(a)pireno (BaP). Para su eliminación del medio ambiente se han desarrollado diversas técnicas de biorremediación: físicas, químicas y biológicas. Entre estas últimas, se ha propuesto el uso de hongos ligninolíticos que poseen complejos enzimáticos extracelulares inespecíficos responsables de la pudrición blanca de la madera. Se sabe que dichos complejos enzimáticos contienen enzimas ligninolíticas, entre las que se encuentra la lacasa. Asimismo, se ha demostrado que la composta residual de *Agaricus bisporus* es una fuente potencial de lacasas[2] por lo que se propone utilizar esta fuente de enzima como una alternativa para la biotransformación de los HPAs.

El objetivo del presente trabajo fue el estudio de la oxidación de BaP por la lacasa proveniente de dos extractos enzimáticos de la composta residual de *Agaricus bisporus*: el extracto crudo liofilizado (ECL) y el extracto parcialmente purificado por sistemas de dos fases acuosas (EFA).

Metodología. El ECL y el EFA se obtuvieron en trabajos previos[2,3]. Las reacciones de oxidación de benzo(a)pireno fueron realizadas en un volumen de 2 mL que contenían 180 U/mL de lacasa, 60 ppm del hidrocarburo y 1.6% de dimetilsulfóxido. Las reacciones se agitaron a 50 rpm durante 72 hr en un agitador orbital a temperatura ambiente. El blanco se preparó en las mismas condiciones con la enzima inactivada con calor. Las cinéticas de oxidación fueron realizadas durante 120 h, con intervalos de muestreo de 24 h. La extracción de BaP se realizó con CH_2Cl_2 . Los extractos orgánicos fueron evaporados a sequedad y resuspendidos en acetonitrilo para su posterior cuantificación por HPLC.

Resultados y discusión. Los porcentajes de oxidación de BaP obtenidos después de 72 h de reacción fueron de $26\% \pm 2.16$ con el ECL y $34\% \pm 0.99$ con el EFA. En cuanto a la cinética de oxidación con ECL, el máximo de oxidación es de 32.5% alcanzado a las 120 hrs, sin embargo entre las 92 y 120 horas prácticamente no hay variación en la oxidación, por lo que se puede decir que a las 92 hrs puede oxidarse más del 30% de la concentración de BaP.

En la figura 1 se observa la cinética con EFA, en donde el máximo porcentaje de oxidación se da a las 120 hrs con un

valor de 45.66%. La cinética confirmó lo que se había observado en los experimentos de oxidación de 72 h, la lacasa parcialmente purificada en los sistemas de dos fases acuosas es capaz de oxidar una mayor concentración de BaP que la presente en el extracto crudo liofilizado, con una diferencia de aproximadamente el 13% de la concentración después de 120 h de reacción.

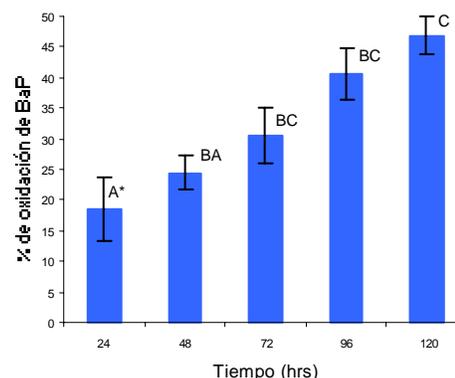


Fig. 1. Cinética de oxidación de BaP utilizando el EFA.

*Las medias con la misma letra en cada barra no son significativamente diferentes ($p=0.01$).

Conclusiones. La enzima tanto del ECL como del EFA, es capaz de oxidar BaP en niveles iguales o incluso mayores a los reportados. Después de 120 h, el EFA es capaz de oxidar el 45% de BaP, que es uno de los compuestos poliaromáticos más complejos estructuralmente y por lo tanto más difíciles de oxidar.

Agradecimientos. Al Dr. Hermilo Leal por la donación de la cepa de *Agaricus bisporus* y la composta. Al Dr. Leobardo Serrano por su apoyo académico y al Técnico Académico Mario Caro por su apoyo técnico (IBt-UNAM). Al CONACyT por la beca No. 186604.

Bibliografía.

- Yerushalmi, L. *et al.* (2003). Enhanced biodegradation of petroleum hydrocarbons in contaminated soil. *Bioremediation Journal*. **7**:37-51.
- Trejo, M.R.; López-Munguía, A. and Quintero, R. (2001). Residual compost of *Agaricus bisporus* as a source of crude laccase for enzymic oxidation of phenolic compounds. *Process Biochemistry*. **36**: 635-639.
- Mayolo-Deloisa, K. (2007) Oxidación de HPAs con lacasa obtenida de la composta residual de *A. bisporus*. Tesis de Maestría. Centro de Investigación en Biotecnología de la UAEM.