



RECUPERACION DE LACASA OBTENIDA DE LA COMPOSTA RESIDUAL DE *Agaricus bisporus* EN SISTEMAS DE DOS FASES ACUOSAS

Karla Mayolo-Deloisa^{1,3}, Mayra Cisneros-Ruiz², Ma. del Refugio Trejo-Hernández¹ y Marco Rito-Palomares².

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 +52 (777) 3297030.

²Departamento de Biotecnología e Ingeniería de Alimentos & Centro de Biotecnología. Tecnológico de Monterrey Campus Monterrey. E-mail: kdeloisa@uaem.mx.

Palabras clave: composta residual, lacasa, sistemas de dos fases acuosas.

Introducción. Se ha demostrado que la composta residual de hongos comestibles (p.e. *Agaricus*) es una fuente potencial de lacasas. Así mismo, se ha utilizado el extracto acuoso proveniente de dichas compostas en la oxidación de compuestos tóxicos tales como fenoles y anilinas, así como sus derivados clorados[1]. Sin embargo, debido a su naturaleza, este extracto crudo presenta algunos inconvenientes que no permiten la caracterización bioquímica de lacasa, por lo que es necesario aplicar una técnica de recuperación sencilla, práctica y económica, que permita la purificación parcial de la enzima. Una de las técnicas de recuperación de proteínas ampliamente utilizada son los sistemas de dos fases acuosas que se caracterizan por ser fácilmente escalables y de bajo costo[2]. Los sistemas de dos fases acuosas han sido utilizados para la recuperación de diversas enzimas, sin embargo hasta el momento no se conocen reportes en donde estos sistemas hayan sido utilizados para la recuperación de lacasa de fuentes compleja como lo es la composta residual del cultivo de *Agaricus bisporus*.

El objetivo de este trabajo es evaluar el potencial de los sistemas de dos fases acuosas para la recuperación primaria de lacasa de la composta residual de *A. bisporus*

Metodología. Se construyeron 16 sistemas con poli-etilenglicol y fosfato (PEG-PO₄) de 5g, con una relación de volumen de las fases de 1.0 (V₁=1) a pH 7, variando el peso molecular del PEG y la longitud de la línea de corte (LLC) [2]. A todos los sistemas se les agregó 1% p/p del extracto crudo liofilizado (ECL). Los sistemas se mezclaron en un agitador mecánico durante 10 min. Posteriormente, se separaron las fases acuosas por centrifugación a 4,000 rpm durante 15 min. La proteína fue cuantificada por el método de Bradford y la actividad lacasa determinada utilizando ABTS como sustrato.

Resultados y discusión. En este trabajo se presentan los porcentajes de recuperación de lacasa en los sistemas de dos fases acuosas (Tabla 1). Una vez separadas las fases, se observó que el porcentaje de recuperación de actividad fue disminuyendo conforme aumentaban tanto la concentración como el peso molecular del PEG, excepto para los sistemas de pesos moleculares altos; sin embargo, aunque la tendencia es ligeramente diferente, la recuperación de la actividad sigue siendo mayor en los sistemas con LLC 40, 45 % p/p (PEG 1000) y 36, 39 % p/p (PEG 1450) donde se recupera

aproximadamente el 80 y 70% de la actividad enzimática, respectivamente. Estos resultados muestran la afinidad de la enzima por la fase superior de los sistemas PEG 1000 y 1450 g/gmol.

Tabla 1. Comportamiento de la recuperación de lacasa en los sistemas de dos fases acuosas.

PEG (g/gmol)	LLC (% p/p)	Recuperación de lacasa (%)
1000	40	79.93
	45	77.94
	55	66.76
	59	48.53
1450	36	71.65
	39	72.39
	51	53.38
	56	39.63
3350	58	44.39
	62	39.10
	56	33.24
	43	59.40
8000	30	29.34
	33	35.95
	41	35.05
	63	32.05

Conclusiones. Los resultados presentados en este estudio demuestran que los sistemas de dos fases acuosas son una alternativa viable para establecer un protocolo simple que permita la recuperación de la lacasa de los cultivos sólidos de *Agaricus bisporus*.

Agradecimientos. Al Dr. Hermilo Leal por la donación de la cepa de *A. bisporus* y la composta. Al Dr. Leobardo Serrano por su apoyo académico y al Técnico Académico Mario Caro de la Planta Piloto del IBT-UNAM.

Bibliografía.

- Trejo-Hernández, 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.
- Rito-Palomares, M. (2004). Practical application of aqueous two-phase partition to process development for the recovery of biological products. *J. Chromatogr. B*. 807:3-11.