

TRANSFORMACIÓN ENZIMÁTICA DE PLAGUICIDAS HALOGENADOS UTILIZANDO LA MANGANESO PEROXIDASA DE *Bjerkandera adusta*

Gustavo Dávila Vázquez^{2*}, Raunel Tinoco¹ y Rafael Vázquez Duhalt¹

¹Instituto de Biotecnología-UNAM. Av. Universidad 2001 Col. Chamilpa C.P. 62210, Cuernavaca, Morelos. México. Fax (777) 3 17 23 88

²Universidad de Guadalajara. Posgrado en Procesos Biotecnológicos. C.U.C.E.I. Blvd. Marcelino García Barragán y Calzada Olímpica S.R., Guadalajara, Jalisco. México

*correo electrónico: gdv@ibt.unam.mx

Palabras clave: plaguicidas, manganeso peroxidasa, biotransformación

Introducción.

Los denominados hongos ligninolíticos, han sido utilizados para biodegradar diversos tipos de contaminantes debido a que producen una variedad de enzimas extracelulares oxidativas como la lignina peroxidasa (LiP), manganeso peroxidasa (MnP), versátil peroxidasa (VP) y lacasa. Mediante la acción de estas enzimas, es posible biotransformar compuestos altamente tóxicos y/o difíciles de degradar, incluso algunos (como los organoclorados) que por sus características fisicoquímicas se han encontrado ampliamente distribuidos en el medio ambiente e incluso en la cadena trófica.

En este trabajo se utilizó una VP (con actividad LiP y MnP) purificada de una cepa hiperproductora del hongo *Bjerkandera adusta* (1) con el objetivo de transformar enzimáticamente un grupo de 13 plaguicidas halogenados, buscando la detoxificación de estos compuestos, con el antecedente de que tanto la LiP como la MnP son capaces de llevar a cabo la deshalogenación oxidativa de fenoles policlorados.

Metodología.

Las oxidaciones de los plaguicidas se verificaron por triplicado en tubos de vidrio a temperatura ambiente en volúmenes de reacción de 1 mL. La mezcla de reacción contenía 10% acetonitrilo en buffer malonatos 50 mM, MnP (6 nM - 2 μ M) y sustrato (plaguicidas, 30-50 μ M), MnSO₄ 0.5 mM para la actividad dependiente del Mn(II), y ausencia de este para la actividad independiente del Mn(II). Las reacciones se iniciaron por la adición de H₂O₂ (0.1 mM) y se analizaron por HPLC con un detector UV de arreglo de diodos. El tiempo de reacción fue de 5 min. Los productos de reacción se purificaron por HPLC, y se analizaron por espectrometría de masas.

Resultados y discusión.

En las condiciones ensayadas, la MnP fue capaz de transformar los tres plaguicidas halogenados mostrados en el cuadro 1. En general se observó un mayor grado de transformación en condiciones de ausencia de manganeso. En la figura 1 se muestran las estructuras de los productos de reacción identificados. En el caso del pentaclorofenol, la

identificación del principal producto, se realizó indirectamente por comparación del tiempo de retención en HPLC y de su espectro de absorción UV con el de un estándar de tetracloro *p*-benzoquinona.

Cuadro 1. Plaguicidas transformados por la MnP

Plaguicida	Actividad específica (min ⁻¹) a pH 3.0	
	Ausencia de Mn(II)	Presencia de Mn(II)
Diclorofen	72.1 (? 1.89)	48.9 (? 5.15)
Bromoxynil	28.37 (? 0.29)	5.24 (? 0.15)
Pentaclorofenol	4.53 (? 0.37)	1.89 (? 0.09)

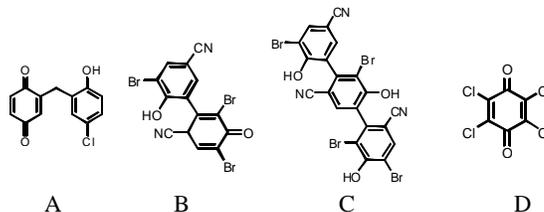


Fig. 1. Productos de reacción de: (A) Diclorofen, (B y C) Bromoxynil y (D) Pentaclorofenol.

Conclusiones.

Se logró la biotransformación de dos plaguicidas organoclorados y otro bromado, con toxicidades agudas de alta a moderadamente alta. La dehalogenación de los sustratos puede tener un efecto detoxificante, así como la posterior polimerización, esto último debido a la disminución de la biodisponibilidad de los productos comparada a la de los sustratos. Además, dado que la actividad LiP resultó ser la más eficiente, pensamos que es posible utilizar mediadores redox, con el objetivo de transformar una mayor cantidad de plaguicidas halogenados.

Agradecimiento. Al Dr. Michael A. Pickard por su apoyo y a la Biol. Rosa Román por su asistencia técnica.

Bibliografía.

1. Wang Y, Vazquez-Duhalt R, Pickard MA (2002) Purification, characterization, and chemical modification of manganese peroxidase from *Bjerkandera adusta* UAMH 8258. *Curr Microbiol* 45: 77-87.

