



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



APLICACIÓN DE ESPECTROSCOPIA ATR-FTIR EN LA OXIDACIÓN CON ENZIMAS LACASAS DE COLORANTE AZUL BRILLANTE REMAZOL

Juvenal Juárez-Hernández¹, Saul Tlecuilt-Beristain¹, Marco López-Pérez¹, Helue García-Ignacio¹, Martha Bibbins-Martínez², Raúl Delgado-Macuil², Gerardo Díaz-Godínez³, Marlon Rojas-Lopez^{2*}

¹Universidad Politécnica de Tlaxcala; Departamento de Investigación y Postgrado, Tepeyanco Tlaxcala, C.P. 90180

²CIBA, Instituto Politecnico Nacional, Tepetitla, Tlaxcala, Tlax. Mexico, ³CICB, Universidad Autónoma de Tlaxcala, Tlaxcala, Tlax. Mexico, *email: marlonrl@yahoo.com.mx

Palabras clave: Biorremediación, Espectroscopia ATR-FTIR, Lacasas.

Introducción. La industria textil consume grandes volúmenes de agua y compuestos químicos en sus procesos, el 10 al 15% de colorante usado es vertido generando contaminación ambiental (1). La lacasa (EC 1.10.3.2) es una oxidasa multicobre, reduce el oxígeno a agua por la transferencia de un electrón de sustratos tales como fenoles y aminas aromáticas (2). Las lacasas han mostrado capacidad para decolorar colorantes del tipo antraquinona, azo y triarilmetano (3, 4).

En el presente trabajo, se analizó el efecto de decoloración de Azul Brillante Remazol por la oxidación con lacasa, usando una técnica de espectroscopía ATR-FTIR y por fermentación sumergida con *P. ostreatus*.

Metodología. Se usaron 500 mL de Azul Brillante Remazol R 100mM (Azul Reactivo 19) (C.I. 61200) y 500µL de enzima lacasa (Denilite™ II Base, Novozymes) a temperatura ambiente en un tubo eppendorf cubierto. Se monitoreo durante 236 horas. Se siguió el proceso de decoloración en fermentación con *P. ostreatus* midiéndose la longitud de onda durante la decoloración, con las técnicas espectrométricas ATR-FTIR y UV-Visible.

Resultados. La estructura química y el espectro ATR-FTIR de la molécula del color se muestra en la Fig. 1. Se observan bandas asociadas al grupo sulfóxido, y grupos funcionales de antraquinona, C-N y N-H. El espectro muestra bandas de absorción entre 3780-3200 cm⁻¹, asociadas a enlaces O-H y N-H, mientras que las bandas a 1646, 1104 y 609 cm⁻¹ están asociadas a las vibraciones S=O, del grupo sulfóxido.

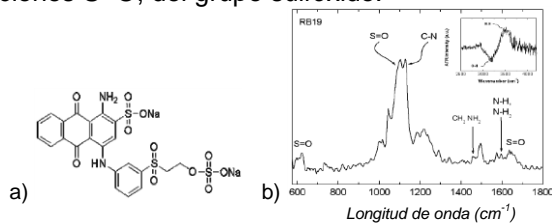


Fig. 1. a) Azul Brillante Remazol R (RB19) C.I. 61200, X_{max}: 592nm. b) Espectro ATR-FTIR del colorante Azul Brillante Remazol R (RB19).

La Fig. 2 ilustra el espectro de (RB19) y la muestra (control+lacasa) obtenido durante la decoloración. Se detecta en la región de la huella digital una banda intensa a 1127 cm⁻¹ asociada al enlace C-N. La intensidad de esta banda disminuye con el tiempo de reacción, sugiriendo una disminución de estos enlaces por la acción de la lacasa. Se siguió el curso de la decoloración del Azul Brillante Remazol R durante la fermentación de

un medio mineral con colorante y *P. ostreatus*. Después de 13 días la remoción del colorante fue de más del 95% (Fig. 3).

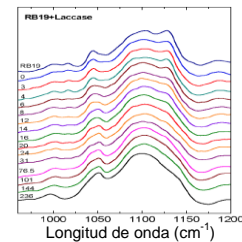


Fig. 2. Espectro ATR-FTIR del color RB19 medido durante 236 horas.

La Fig. 3 muestra el perfil de decoloración de Azul Brillante Remazol R, usando espectroscopia UV-Visible, observándose el cambio del perfil de absorción durante la fermentación (decoloración).

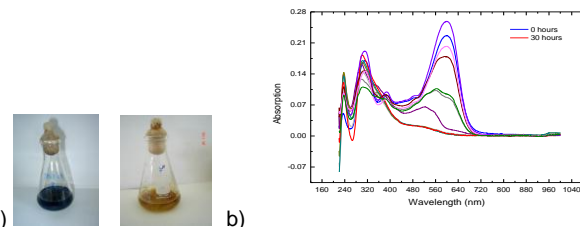


Figura 3. a) Medio de cultivo con colorante y posterior a 13 días de fermentación en medio mineral en presencia de *Pleurotus ostreatus*. b) Espectro UV-visible de Azul Brillante remazol industrial por fermentación con *Pleurotus ostreatus* en medio mineral.

Conclusiones. El grupo amino secundario (N-H) del color RB19 es el principal punto de ataque de la enzima lacasa con lo se rompe el enlace C-N. Se muestra la importancia de éste estudio como una base para la identificación de productos formados por la acción de la lacasa en procesos de biorremediación.

La técnica espectroscópica ATR-FTIR resulta útil para seguir el curso de la fermentación en base al consumo de los metabolitos, la glucosa o la desaparición del color.

Agradecimientos. Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada para la realización del presente trabajo.

Referencias.

- (1) Young L and Yu J. (1997). *Water Res* 31:1187-1193.
- (2) Perkowski J, Kos L, Ledakowicz S, Zylla R. (2003). *Fibres and Textiles in Eastern Europe* 11:88-94.
- (3) Bourbonnais R, Paice M.G, Freiermuth B, Bodie E, and Bomeman S. (1997). *Applied Environmental Microbiology*. 54 12:4627-4632.
- (4) Peralta-Zamora P, Pereira CM, Tiburtius R.L, Moraes S.G, Rosa M.A, Minussi R.C, Duran N. (2002). *Appl Catalysis B:Environmental* 1295:1-14.