

**PURIFICACIÓN, CARACTERIZACIÓN Y APLICACIONES DE UNA PEROXIDASA ANIÓNICA DE *R. SATIVUS* VAR. *LONGIPINNATUS***

Hiram García Ortiz, Eva Bermúdez, Depto. Alimentos y Biotecnología, Facultad de Química, UNAM, CDMX, 04510 315063794@quimica.unam.mx.

*Palabras clave: peroxidasa, biorremediación, colorantes*

**Introducción.** Las enzimas son catalizadores biológicos de carácter proteico que actúan en un gran número de reacciones bioquímicas en los organismos vivos. Además de su función biológica, se utilizan para catalizar una amplia gama de procesos de importancia comercial y de biorremediación. Entre las enzimas que se utilizan con fines biotecnológicos, destacan las peroxidasas (EC 1.11.1.7), que pertenecen al grupo de las oxidoreductasas y catalizan una reacción de óxido reducción donde el  $H_2O_2$  actúa como aceptor mientras que otro compuesto actúa como donador de átomos de  $H^+$  (1).

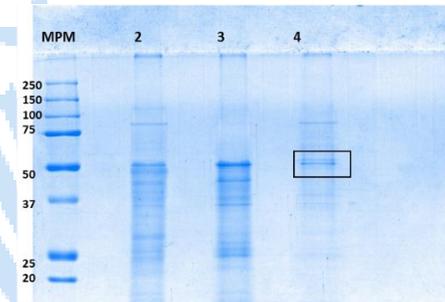
El objetivo de este trabajo fue purificar y caracterizar nuevas enzimas con actividad peroxidasa a partir de fuentes vegetales para aplicarlas a procesos de bioremediación.

**Metodología.** Se obtuvieron extractos enzimáticos de *R. sativus*, *B. rapa*, *O. ficus-indica* y *R. sativus* var. *longipinnatus* que se purificaron mediante precipitación con sulfato de amonio, cromatografía de exclusión molecular y de intercambio aniónico. La actividad peroxidasa se midió utilizando guayacol como sustrato (2). La fracción con mayor actividad se caracterizó fisicoquímicamente y se obtuvo su perfil proteico mediante SDS-PAGE. Una vez determinadas sus condiciones óptimas se ensayó la capacidad de las peroxidasas para degradar colorantes y antibióticos betalactámicos (3).

**Resultados.** Se purificaron fracciones con actividad peroxidasa de las 4 fuentes vegetales utilizadas, obteniendo la mayor actividad específica en la fracción aniónica de *R. sativus* var. *longipinnatus* que se logró purificar 36.8 veces.

El perfil proteico de esta fracción muestra tres bandas cercanas a los 60 kDa. Existen isoformas reportadas para *R. sativus* de peso molecular cercano, pero es la primera vez que se reportan para la variedad *longipinnatus*.

Esta fracción presentó un pH óptimo de 7.0 y conservó más del 80% de su actividad en un intervalo de pH de 6.0 a 8.0 a 180 minutos. Su temperatura óptima fue de 35° C y presentó afinidad por diversos compuestos fenólicos (guayacol, pirogalol, ácido cafeico y ferúlico). Su actividad se ve incrementada en presencia de iones metálicos como  $Fe^{3+}$  1 y 10 mM y Ca 1 mM.



**Fig. 1.** SDS-PAGE de las fracciones de purificación del extracto de *r. sativus* var. *longipinnatus*. MPM: Marcador de Peso Molecular All Blue (Biorad) 2: Fracción recuperada de la precipitación con  $(NH_4)_2SO_4$  3: Fracción recuperada de la cromatografía de exclusión molecular. 4: Fracción recuperada de la cromatografía de intercambio aniónica.

Finalmente se comprobó la capacidad de la fracción purificada para degradar colorantes azoicos y se observó la mayor actividad contra verde de bromocresol a las 72 h a 35° C y contra rojo carmínico a las 48 h a 35° C. Respecto a la degradación de antibióticos, se logró una eliminación del 90% de ampicilina a las 120 h de reacción a temperatura ambiente. Esta sustancia es considerada un contaminante no permitido en alimentos de origen animal o aguas.

**Conclusiones.** Se logró purificar y caracterizar una nueva fracción aniónica con actividad peroxidasa proveniente de *R. sativus* var. *longipinnatus* que es capaz de degradar compuestos azoicos y antibióticos

**Agradecimiento.** Proyecto PAPIME PE205422 del Departamento de Alimentos y Biotecnología, Facultad de Química, UNAM.

**Bibliografía.**

1. Thongsook T, B. D. (2005). Purification and partial characterization of broccoli (*Brassica oleracea* Var. *Italica*). Journal Agriculture Food Chem, 3206-3214..
2. Khurshid Shazia, M. Z. (2012). Production and purification of horseradish peroxidase. International Journal of the Physical Sciences, 2706-2712
3. Piyangkun ,L (2019) Two Manganese Peroxidases and a Laccase of *Trametes polyzona* KU-RNW027 with Novel Properties for Dye and Pharmaceutical Product Degradation in Redox Mediator-Free System, Mycobiology, 47:2, 217-229, 2.