

**Evaluación de medios de cultivo para la producción de oxidorreductasas extracelulares por *Bacillus toyonensis*.**

Daniel Toledo Aranda <sup>a</sup>, Laura Catalina Castillo Carvajal <sup>a</sup>, Eliseo Cristiano Urbina <sup>b</sup>, Oswaldo Arturo Ramos Monroy <sup>b</sup>. <sup>a</sup> Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Anáhuac México Norte, Ciudad de México C.P. 52786. <sup>b</sup> ENCB, Instituto Politécnico Nacional, Ciudad de México C.P. 07738. Email: daniel.toledoar@anahuac.mx.

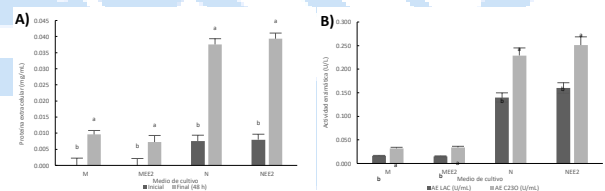
*Palabras clave: oxidorreductasa, extracelular, Bacillus toyonensis.*

**Introducción.** Las oxidorreductasas son usados en biorremediación enzimática debido a su capacidad de convertir diversos compuestos xenobióticos en sustancias más simples o conjugadas y menos reactivas (1). La optimización de sus procesos de producción ha generado el desarrollo de métodos experimentales y estadísticos que permiten modelar comportamientos de los componentes de un medio de cultivo; sin embargo, estos modelos dependen de las condiciones a las que son evaluados (pH, temperatura, aireación) así como del microorganismo estudiado (2). Este trabajo busca evaluar el potencial de *Bacillus toyonensis* para producir oxidorreductasas extracelulares útiles para la biorremediación, así como el efecto que tienen algunos nutrientes, en la producción y actividad enzimática de enzimas del microorganismo.

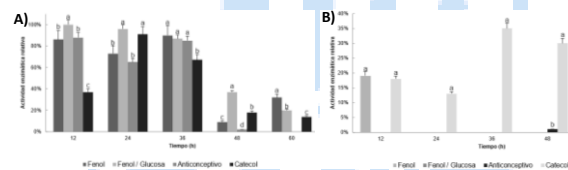
**Metodología.** El trabajo se desarrolló en tres etapas generales. La primera, detección de enzimas extracelulares, se realizó evaluando: el crecimiento microbiano en medio nutritivo y medio mínimo mineral mediante los métodos espectrofotométrico (OD<sub>600</sub>) y cuenta viable por crecimiento en placa (UFC/mL); y la cantidad de proteína extracelular producida por el método de Bradford (µg/mL). Posteriormente se realizó la detección de oxidorreductasas, de acuerdo con su afinidad con diferentes sustratos: lacasas, lignina y manganeso peroxidasas, catecol 1,2 – dioxigenasa (C12O) y catecol 2, 3 – dioxigenasa (C23O). Finalmente, en la tercera etapa se propusieron diferentes medios de cultivo para evaluar su efecto en la producción y actividad enzimática de las oxidorreductasas extracelulares detectadas.

**Resultados.** La producción de proteína extracelular en *B. toyonensis* se presentó en su fase estacionaria hasta un valor máximo de 0.038 mg/mL a las 48 h de crecimiento en caldo nutritivo y un valor de 0.009 mg/mL en medio mineral, presentando actividad enzimática de lacasa y C23O sin verse afectada por la presencia de etinilestradiol como inductor (Fig. 1). Se observó actividad enzimática de oxidorreductasas extracelulares producidas por *B. toyonensis* en cuatro

de nueve medios de cultivo publicados previamente, en los que bacterias del género *Bacillus* habían presentado ésta. Finalmente, sustratos como el fenol, catecol y etinilestradiol como única fuente de carbono presentaron un aumento en la actividad enzimática relativa de C12O y C23O (Fig. 2).



**Fig. 1.** A) Proteína extracelular total (mg/mL) y B) Actividad enzimática (U/L) producida por *B. toyonensis* en M: medio mínimo mineral, N: medio nutritivo, EE2: medio adicionado con anticonceptivo (50 ppm) a 48 de crecimiento.



**Fig. 2.** Actividad enzimática relativa (%) de A) C12O y B) C23O observada en *B. toyonensis* con diferentes fuentes de carbono en medio Mecinas-Granados et al. (3) a 37 °C y 150 rpm.

**Conclusiones.** *B. toyonensis* produce proteínas extracelulares con actividad enzimática de lacasas, C12O y C23O, la cual se presenta en medios cuya composición contenga MgSO<sub>4</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> y (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, y ésta puede ser aumentada al emplear diferentes sustratos como fenol y catecol como única fuente de carbono.

**Agradecimiento.** A la Universidad Anáhuac México y a la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas por las facilidades otorgadas para llevar a cabo el presente trabajo.

**Bibliografía**

- Okino-Delgado, C. H., Zanutto-Elgui, M. R., do Prado, D. Z., Pereira, M. S., & Fleuri, L. F. (2019). *Microbial Metabolism of Xenobiotic Compounds*. Vol (10): 79–101.
- Santos, V. L., & Linardi, V. R. (2004). *Process Biochemistry*. Vol (39): 1001–1006
- Mecinas-Granados, M., Castillo-Carvajal, L., & Ramos-Monroy, O. (2020). *Biodegradación de anticonceptivos de origen químico mediante el uso de biorreactores de lecho empacado*. Universidad Anáhuac México.