

OXIDACIÓN DEL ALCOHOL VERATRÍLICO POR TtLacA DE *Thielavia terrestris* Co3Bag1 EN SISTEMA LACASA-MEDIADOR INMOVILIZADO EN PERLAS DE Cu-ALGINATO

Marina Gutiérrez Antón, Alejandro Santiago Hernández y María Eugenia Hidalgo Lara

Departamento de Biotecnología y Bioingeniería CINVESTAV. Av. Instituto Politécnico Nacional No. 2508. C.P. 07360. Tel. 5747-3800 ext. 4360. e-mail: ehidalgo@cinvestav.mx

Palabras clave: laccase, alcohol veratrílico, oxidación

Introducción. Las lacasas son multicobre oxidasas, capaces de llevar a cabo la reducción del oxígeno molecular a dos moléculas de agua como único subproducto, en un mecanismo de transferencia de cuatro electrones acoplado a la oxidación de los sustratos modelo de la lignina (1). Aunque las lacasas no oxidan directamente compuestos no fenólicos, debido a su bajo potencial redox, se emplean mediadores con bajo peso molecular que actúan simultáneamente como sustrato de la enzima, por ejemplo el ABTS (2,2 azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato) (2). Nuestro grupo reportó previamente la purificación y caracterización bioquímica de la lacasa TtLacA de *T. terrestris* Co3Bag1, así como la inmovilización simultánea de la enzima con ABTS como mediador, en perlas alginato de cobre, bajo condiciones estandarizadas. El objetivo de este trabajo fue evaluar la oxidación de un compuesto no fenólico en un sistema lacasa-mediador co-inmovilizado en perlas de alginato de cobre.

Metodología. El sistema TtLacA-ABTS se inmovilizó en perlas de alginato de cobre (3). Se preparó una mezcla de alginato de sodio al 3 %, 100 U/L de lacasa y 1 mM de ABTS (1:1:1) en agitación continua a temperatura ambiente. Se midió el cambio de Absorbancia por la oxidación de alcohol veratrílico (AV) a veratraldehído (4). Para determinar el número de reusos las perlas inmovilizadas fueron separadas después de cada reacción y se lavaron con amortiguador de glicina-HCl 100 mM, pH 3.0, repetidamente. La actividad de TtLacA-ABTS del primer ciclo fue considerado como 100 % utilizando como sustrato 3 mM de AV.

Resultados. Se determinó la oxidación de AV a veratraldehído (Figura 1). Los resultados muestran que: TtLacA y ABTS de forma individual no fueron capaces de oxidar el AV durante el tiempo establecido de 24 h; sin embargo, cuando se empleó el sistema TtLacA-ABTS libre o TtLacA-ABTS inmovilizado en perlas de alginato de cobre se detectaron concentraciones de veratraldehído de 0.79 mM y 0.53 mM, respectivamente.

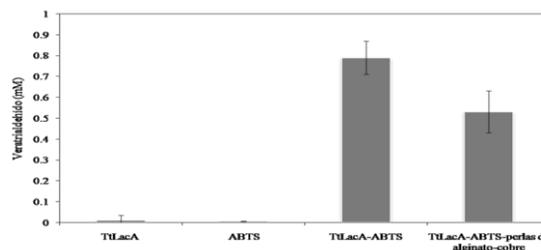


Fig. 1. Oxidación de alcohol veratrílico a veratraldehído.

En cuanto a los reusos del sistema inmovilizado, se observó actividad catalítica después de dos ciclos repetidos (Figura 2). En el segundo ciclo se observó una disminución a 75.3 % de actividad relativa y para el tercer ciclo de reúso sólo se registró el 22.5 % de actividad relativa.

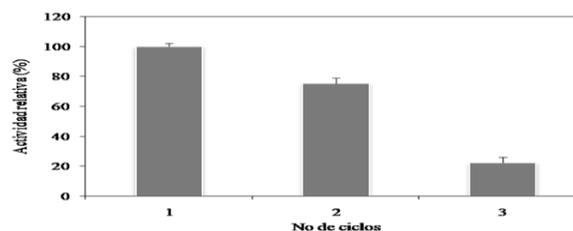


Fig. 2. Número de reusos del sistema TtLacA-ABTS inmovilizado en perlas de Cu-alginato

Conclusiones. TtLacA, es capaz de oxidar AV en presencia de ABTS como mediador, lo cual amplía su uso catalítico sobre sustratos fenólicos y no fenólicos, en procesos biotecnológicos. La oxidación del AV fue superior en el sistema TtLacA-ABTS libre comparado con el sistema inmovilizado, sin embargo, en este último fue posible llevar a cabo dos ciclos de reúso.

Agradecimientos. Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por financiar este trabajo.

Bibliografía.

- Giardina P., et al. (2010). *Cell Mol Life Sci.* 67:369-385.
- Cañas A. y Camarero S. (2010). *Biotechnol. Adv.* 28:694-705.
- Sondhi S., et al. (2018). *Int. J. Biol. Mol.* 117:1093-1100.
- Heap L., et al. (2014). *Catal Sci Technol.* 4:2251-2259.

