

EFFECTO DEL COSUSTRATO Y DEL COFACTOR EN LA OPTIMIZACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE ENZIMAS LIGNINOLÍTICAS CON *Trametes versicolor*

Iris Arvizu^a, Evelyn Becerra^a, Saúl Guzmán^a, Marina Atilano^a, Bernardo Garcia-Reyes^a, Luis H. Álvarez^b, Alcione García-González^{a*}

^aFacultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL). Av. Universidad S/N. Cd. Universitaria, San Nicolás de los Garza, NL, 66455 México.

^bInstituto Tecnológico De Sonora 5 de Febrero 818 Sur, Col Centro CP 85000 Cd Obregon Sonora.

*alcionegarcia@yahoo.com.mx

Palabras clave: *Trametes versicolor*, enzimas ligninolíticas, optimización de la producción enzimática.

Introducción. Los hongos de la pudrición blanca de madera tienen muchas aplicaciones biotecnológicas. Esto debido a que tienen la capacidad de producir enzimas ligninolíticas de manera extracelular, con actividad oxidativa contra una amplia variedad de sustancias tóxicas recalcitrantes, entre esos hongos se encuentra *Trametes versicolor*. En este trabajo de investigación se realizó la optimización de la producción de enzimas ligninolíticas con un diseño de experimentos central compuesto 2³, donde se evaluó el efecto de los tipos de cofactor (CuSO₄, MgSO₄, MnSO₄, CuCl₂ y Cu(NO₃)₂) a diferentes concentraciones (0, 0.25, 0.5 y 1 mM) y el tipo de cosustrato (salvado de trigo, cáscara de naranja, cáscara de plátano, bagazo de agave y tusa de maíz). Las variables respuesta fueron la actividad enzimática de lacasas (Lac), manganeso peroxidasas (MnP), lignin peroxidasas (LiP), la concentración de azúcares reductores, compuestos fenólicos y proteína.

Metodología. El hongo propagó primero en fase sólida en PDA a 30 °C durante 10 días. Posteriormente se cortaron 10 plogs de 1 x 1 cm y se agregaron en matraces erlenmeyer con 250 mL del medio de Kirk, al cual se le agregó un cosustrato y un cofactor diferentes concentraciones, según correspondía el Diseño de Experimentos. Se incubaron con agitación a 150 rpm, a 30°C durante 18 días. Durante la fermentación en fase líquida se monitoreó regularmente las variables respuesta midiendo azúcares reductores (método de Miller 1959), azúcares totales (método Dubois et al. 1956), proteína extracelular (método de Bradford), compuestos fenólicos, actividad de lacasa con 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS), LiP (alcohol veratril y peróxido de hidrógeno) y MnP (Peróxido de hidrogeno).

Tabla 1. Niveles del diseño de experimentos

Variable independiente	-α	-1	0	+1	+α
Tipo de Cosustrato	Tusa	Bagazo de agave	Salvado de trigo	Cáscara de plátano	Cáscara de naranja
Cofactor	Cloruro de cobre	Sulfato de magnesio	Sulfato de cobre	Sulfato de manganeso	Nitrato de cobre
Concentración de cofactor	0	0.25 mM	0.5 mM	0.75 mM	1 mM

Resultados.

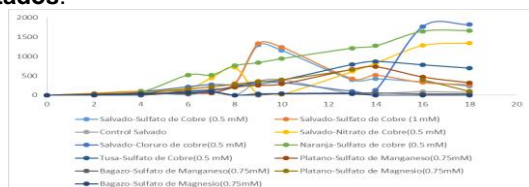


Fig. 1.. Cinética de actividad enzimática de lacasa en el Diseño Experimental

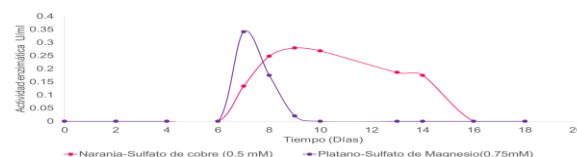


Fig. 2. Cinética de actividad enzimática de MnP en el Diseño Experimental

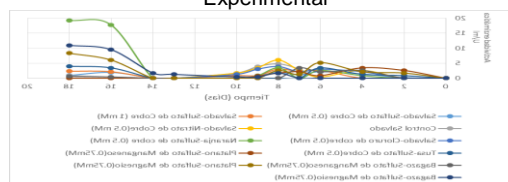


Fig. 3. Cinética de actividad enzimática de LiP en el Diseño Experimental

Conclusiones. De la cinética realizada por el diseño de experimentos la combinación que obtuvo mayor actividad enzimática de lacasa fue Salvado-Cloruro de cobre (0.5 mM) al día 18, mayor actividad enzimática de Lip Plátano-Sulfato de Magnesio (0.75mM) al día 7 y para MnP fue la cáscara naranja-Sulfato de cobre (0.5 mM) al día 18.

Bibliografía.

- Lim, S. H., Nahm, K., Ra, C. S., Cho, D. W., Yoon, U. C., Latham, J. A., Mariano, P. S. (2013). Effects of alkoxy groups on arene rings of lignin β-O-4 model compounds on the efficiencies of single electron transfer-promoted photochemical and enzymatic C-C bond cleavage reactions. *Journal of Organic Chemistry*, 78(18), 9431–9443.
- Moreira, M. T., Feijoo, G., & Lema, J. M. (2003). Fungal bioreactors: Applications to white-rot fungi. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 2(2–4), 247–259. <http://doi.org/10.1023/B:RESB.0000040463.80808.dc>
- Liu, J., Yu, Z., Liao, X., Liu, J., Mao, F., & Huang, Q. (2016). Scalable production, fast purification, and spray drying of native Pycnoporus

