

Guía docente de la asignatura

**Biotransformación de
Moléculas de Difícil
Degradación**Fecha última actualización: 04/07/2021
Fecha de aprobación por la Comisión
Académica: 15/07/2021**Máster**

Máster Universitario en Investigación y Avances en Microbiología

MÓDULO

Módulo de Docencia

RAMA

Ciencias

**CENTRO RESPONSABLE
DEL TÍTULO**

Escuela Internacional de Posgrado

| | | | | | | | |
|-----------------|---------|-----------------|---|-------------|----------|--------------------------|------------|
| Semestre | Primero | Créditos | 3 | Tipo | Optativa | Tipo de enseñanza | Presencial |
|-----------------|---------|-----------------|---|-------------|----------|--------------------------|------------|

PRERREQUISITOS Y/O RECOMENDACIONES

Los del Máster

BREVE DESCRIPCIÓN DE CONTENIDOS (Según memoria de verificación del Máster)

1. En la parte teórica:

- Introducción a la lignina y su degradación.
- Introducción a los microorganismos ligninolíticos.
- Aplicaciones de los hongos ligninolíticos y sus enzimas en la degradación de moléculas recalcitrantes.
- Introducción a la cromatografía líquida. Definición de HPLC y utilidad.
- Introducción a la espectrometría de masas. Utilidad de un cuádruplo simple como detector. Formas de ionización y funcionamiento.
- Introducción a LC-MS.

2. En la parte práctica:

- Desarrollo de un proceso de degradación de moléculas recalcitrantes por hongos ligninolíticos.
- Descripción del papel del sistema ligninolítico en el proceso de degradación.
- Preparación de muestras para su inyección y análisis en LC-MS.
- Interpretación de resultados obtenidos por LC-MS.
- Cuantificación de los productos de partida no metabolizados.



- Identificación por espectrometría de masas de los productos de metabolización.

COMPETENCIAS

COMPETENCIAS BÁSICAS

- CB6 - Poseer y comprender conocimientos que aporten una base u oportunidad de ser originales en desarrollo y/o aplicación de ideas, a menudo en un contexto de investigación.
- CB7 - Que los estudiantes sepan aplicar los conocimientos adquiridos y su capacidad de resolución de problemas en entornos nuevos o poco conocidos dentro de contextos más amplios (o multidisciplinares) relacionados con su área de estudio.
- CB8 - Que los estudiantes sean capaces de integrar conocimientos y enfrentarse a la complejidad de formular juicios a partir de una información que, siendo incompleta o limitada, incluya reflexiones sobre las responsabilidades sociales y éticas vinculadas a la aplicación de sus conocimientos y juicios.
- CB9 - Que los estudiantes sepan comunicar sus conclusiones y los conocimientos y razones últimas que las sustentan a públicos especializados y no especializados de un modo claro y sin ambigüedades.
- CB10 - Que los estudiantes posean las habilidades de aprendizaje que les permitan continuar estudiando de un modo que habrá de ser en gran medida autodirigido o autónomo.

COMPETENCIAS ESPECÍFICAS

- CE01 - Reconocer un problema microbiológico que ofrezca interés para la investigación, describirlo apropiadamente en su entorno (antecedentes, estado de la cuestión, hipótesis planteadas por otros autores, etc.) y plantear con claridad los objetivos de la investigación correspondiente.
- CE02 - Diseñar el proceso de investigación apropiado para resolver el problema planteado, seleccionando las metodologías y técnicas más eficaces y los experimentos oportunos de acuerdo con los objetivos de la investigación propuesta.
- CE03 - Poner a punto las técnicas necesarias para la resolución del problema planteado, contrastando su corrección y validación.
- CE04 - Realizar la investigación diseñada, trabajando dentro de un equipo y/o en colaboración con otros investigadores.
- CE05 - Elaborar los datos de laboratorio y presentar los resultados de forma lógica y funcional.
- CE06 - Establecer de forma crítica la relevancia y significación de los resultados obtenidos respecto de los objetivos propuestos y elaborar las conclusiones pertinentes, en el marco del conocimiento científico actual sobre el tópico en cuestión.
- CE07 - Elaborar un *¿reporte¿* científico/técnico o trabajo de investigación que comunique a la comunidad científica la aportación de la investigación realizada, manejando las tecnologías de la información útiles para la adquisición y difusión de resultados en investigación.
- CE08 - Presentar públicamente ideas, procedimientos o informes de investigación sobre microbiología para asesorar a personas y a organizaciones.

RESULTADOS DE APRENDIZAJE (Objetivos)



El alumno sabrá/comprenderá:

1. Adquirir una visión general de la importancia de la lignina como molécula natural de extraordinaria estabilidad y explicar la relación estructura química/estabilidad/enzimas/microorganismos.
2. Describir la degradación de los materiales lignocelulósicos y productos obtenidos de ellos.
3. Componer una visión general de los organismos ligninolíticos.
4. Describir la enzimología de la degradación de la lignina.
5. Aplicar los conocimientos sobre los microorganismos ligninolíticos y sus enzimas a procesos industriales y de conservación del medio ambiente.
6. Examinar el uso de técnicas para evaluar la biodegradación de tóxicos ambientales.
7. Evaluar la presencia de compuestos orgánicos mediante técnicas de LC-MS.

El alumno será capaz de:

El tipo de experimentación de este curso pretende que los alumnos adquieran conocimientos prácticos y destrezas en:

1. Cultivo de hongos filamentosos.
2. Enzimología de la ligninólisis: Actividad, producción, purificación.
3. Biodegradación de tóxicos por cultivos de hongos ligninolíticos.
4. Caracterización molecular de la pérdida de toxicidad.
5. Aplicación de LC-MS en la evaluación de la biodegradación de moléculas recalcitrantes.

PROGRAMA DE CONTENIDOS TEÓRICOS Y PRÁCTICOS

TEÓRICO

1. Introducción.
 - El fotosintato vegetal más recalcitrante: Lignina.
 - Microorganismos ligninolíticos.
2. Los sistemas ligninolíticos: enzimas y cofactores para la oxidación de moléculas recalcitrantes.
 - Tipos de enzimas implicados.
3. Aplicaciones de los hongos ligninolíticos y sus enzimas para el mejor desarrollo sostenible.
 - Incidencia en la industria papelera. Incidencia en alimentación. Incidencia en derrames de crudo de petróleo. Otras aplicaciones.
4. Introducción a la cromatografía líquida. Definición de HPLC y utilidad.
5. Introducción a la espectrometría de masas. Utilidad de un cuádruplo simple como detector. Formas de ionización y funcionamiento. Introducción a LC-MS.

PRÁCTICO



PRÁCTICAS DE LABORATORIO:

Desarrollo de un proceso de degradación de xenobióticos recalcitrantes por hongos ligninolíticos.

1. Cultivo de hongos ligninolíticos.
2. Demostración de la participación del sistema ligninolítico.
3. Modificaciones moleculares asociadas a la degradación del xenobiótico:
 - Preparación de muestras para su inyección y análisis en LC-MS.
 - Interpretación de resultados obtenidos por LC-MS.
 - Cuantificación de los productos de partida no metabolizados.
 - Identificación por espectrometría de masas de los productos de metabolización.

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA FUNDAMENTAL

- Baldrian, P. **2006**. Fungal laccases occurrence and properties. *FEMS Microbiology Review* 30: 215–242.
- Claus, H. **2004** Laccases: structure, reactions, distribution. *Micron* 35: 93–96.
- Colpa, D.I., Fraaije, M.W., Van Bloois, E. **2014**. DyP-type peroxidases: A promising and versatile class of enzymes. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 41(1), 1–7.
- Dua, M., Singh, A., Sethunathan, N., y Johri, A.K. **2002**. Biotechnology and bioremediation: successes and limitations. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 59:143–152.
- Hansen, S.; Pedersen-Bjergaard, S.; Rasmussen, K. **2012**. *Introduction to Pharmaceutical Chemical Analysis*; John Wiley & Sons: Chichester, West Sussex.
- Hofrichter, M., Ullrich, R. **2014**: Oxidations catalyzed by fungal peroxygenases. *Current Opinion in Chemical Biology* 19:116–125.
- Janusz, G., Kucharzyk, K.H., Pawlik, A., Staszczak, M., Paszczynski, A.J., **2013**. Fungal laccase, manganese peroxidase and lignin peroxidase: Gene expression and regulation. *Enzyme Microbiology and Technology*. 52, 1–12.
- Majeau, J.-A., Brar, S.K., y Tyagi, R. D. **2010**. Laccases for removal of recalcitrant and emerging pollutants. *Bioresource Technology* 101: 2331–2350.
- Martínez, A.T. **2002**. Molecular biology and structure-function of lignin-degrading heme peroxidases. *Enzyme and Microbial Technology* 30: 425–444
- Reddy, C. y Z. Mathew, Z. **2001**. Bioremediation potential of white rot fungi. In: Gadd, G. (Eds.) *Fungi in bioremediation*. Cambridge University Press. Cambridge, U.K.
- Rivera-Hoyos, C.M., Morales-Álvarez, E.D., Poutou-Piñales, R.A., Pedroza-Rodríguez, A.M., Rodríguez-Vázquez, R., Delgado-Boada, J.M. **2013**. Fungal laccases. *Fungal Biology Reviews*, 27(3–4), 67–82.
- Robert, V., Mekmouche, Y., Pailley, P. R., Tron, T. **2010**. Engineering laccases: In search for novel catalysts *Current Genomics* 12: 123–129.
- Stolz, A. **2001**. Basic and applied aspects in the microbial degradation of azo dyes. *Applied Microbiology and Biotechnology* 56:69–80
- Yang, S., Hai, F.I., Nghiem, L.D., Price, W.E., Roddick, F., Moreira, M.T., Magram, S.F. **2013**. Understanding the factors controlling the removal of trace organic contaminants by white-rot fungi and their lignin modifying enzymes: A critical review. *Bioresource Technology*, 141, 97–108.

BIBLIOGRAFÍA COMPLEMENTARIA



- Aranda, E., Kinne, M., Kluge, M., Ullrich, R., Hofrichter, M. **2009**. Conversion of dibenzothiophene by the mushrooms *Agrocybe aegerita* and *Coprinellus radians* and their extracellular peroxygenases. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 82(6), 1057-1066.
- Camacho-Morales RL, García-Fontana C, Fernández-Irigoyen J, Santamaría E, González-López J, Manzanera M, Aranda E. Anthracene drives sub-cellular proteome-wide alterations in the degradative system of *Penicillium oxalicum*. *Ecotox. Environ. Safe* **2018**, 159: 127-135.
- Gómez-Toribio, V., García-Martín, A.B., Martínez, M.J., Martínez, Á.T., Guillén, F. **2009**. Induction of extracellular hydroxyl radical production by white-rot fungi through quinone redox cycling. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(12), 3944-3953.
- Hofrichter, M., Ullrich, R., Pecyna, M. J., Liers, C. y Lundell, T. **2010**. New and classic families of secreted fungal heme peroxidases. *Applied Microbiology and Biotechnology* 87: 871-897.
- Leonowicz, A., Matuszewska, A., Luterek, J., Ziegenhagen, D., Wasilewska, M.W., Cho, N.-S. Hofrichter, M., y Rogalski, J. **1999**. Biodegradation of lignin by white rot fungi. *Fungal Genetics and Biology* 27: 175-185.
- Lundell, T. K., Makela, M.R., y Hilden, K. **2010**. Lignin-modifying enzymes in filamentous basidiomycetes - ecological, functional and phylogenetic review *Journal of Basic Microbiology* 50: 5-20.
- Pointing, S. B. **2001**. Feasibility of bioremediation by white-rot fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology* 57:20-33.
- Reina, R., Kellner, H., Jehmlich, N., Ullrich, R., García-Romera, I., Aranda, E., Liers, C., **2014**. Differences in the secretion pattern of oxidoreductases from *Bjerkandera adusta* induced by a phenolic olive mill extract. *Fungal Genetic and Biology*. 72, 99-105.
- Riley, R., Salamov, A.A., Brown, D.W., Nagy, L.G., Floudas, D., Held, B.W., Lévassieur, A., Lombard, V., Morin, E., O'tillar, R., Lindquist, E.A., Sun, H., LaButti, K.M., Schmutz, J., Jabbour, D., Luo, H., Baker, S.E., Pisabarro, A.G., Walton, J.D., Blanchette, R.A., Henrissat, B., Martin, F., Cullen, D., Hibbett, D.S., Grigoriev, I.V., **2014**. Extensive sampling of basidiomycete genomes demonstrates inadequacy of the white-rot/brown-rot paradigm for wood decay fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 111, 9923-9928.
- Ruiz-Dueñas, F. J., Morales, M. Pérez-Boada, M. Choinowski, T. Martinez, M. J. Piontek, K., y Martinez, A.T. **2007**. Manganese oxidation site in *Pleurotus eryngii* versatile peroxidase: A site-directed mutagenesis, kinetic, and Designer laccases: a vogue for high-potential fungal enzymes? *Trends in Biotechnology* 28: 63-72.
- Schwarz, J.; Aust, M.; Thiele-Bruhn, S. **2010**. Metabolites from fungal laccase-catalysed transformation of sulfonamides. *Chemosphere*, 81, 1469-1476.
- Sugano, Y. **2009**. DyP-type peroxidases comprise a novel heme peroxidase family. *Cellular and Molecular Life Science* 66: 1387-1403.

ENLACES RECOMENDADOS

<http://www.eea.europa.eu/es/>

www.peroxycats.org

<http://tolweb.org/tree/>

<http://webbook.nist.gov/chemistry/>

<http://www.cazy.org/>



<http://www.envirolink.org/>

<http://www.climatehotmap.org/>

<https://aftol.umn.edu/>

METODOLOGÍA DOCENTE

- MD01 Clases magistrales
- MD02 Experimentación
- MD03 Colección, estudio y análisis bibliográfico

EVALUACIÓN (instrumentos de evaluación, criterios de evaluación y porcentaje sobre la calificación final)

EVALUACIÓN ORDINARIA

El artículo 17 de la Normativa de Evaluación y Calificación de los Estudiantes de la Universidad de Granada establece que la convocatoria ordinaria estará basada preferentemente en la evaluación continua del estudiante, excepto para quienes se les haya reconocido el derecho a la evaluación única final.

1. Asistencia obligatoria como mínimo al 80% de las actividades presenciales. Equivale al 50% de la calificación final. Competencias evaluadas: CB2, CE1, CE2, CE5, CE6, CE9, CE18.
2. Evaluación de los resultados obtenidos en el laboratorio a través de la actividad diaria y de la elaboración de una memoria pormenorizada de los fundamentos, métodos, resultados y significación de estos: 25% de la calificación final. Competencias evaluadas: CB3, CB5, CE1, CE3, CE4, CE5, CE6, CE7, CE18.
3. Exposición pública y discusión de los resultados obtenidos: 25% de la calificación final. Competencias evaluadas: CB4, CE3, CE4, CE5, CE6, CE8, CE9.

EVALUACIÓN EXTRAORDINARIA

El artículo 19 de la Normativa de Evaluación y Calificación de los Estudiantes de la Universidad de Granada establece que los estudiantes que no hayan superado la asignatura en la convocatoria ordinaria dispondrán de una convocatoria extraordinaria. A ella podrán concurrir todos los estudiantes, con independencia de haber seguido o no un proceso de evaluación continua. De esta forma, el estudiante que no haya realizado la evaluación continua tendrá la posibilidad de obtener el 100% de la calificación mediante la realización de una prueba y/o trabajo.

1. Realización de una práctica en el laboratorio (equivale al 50% de la calificación final). La práctica a realizar será una de las realizadas en el laboratorio durante el desarrollo de la asignatura.
2. Elaboración de una memoria con los conceptos aplicados para la realización de la práctica y resultados obtenidos (equivale al 25% de la calificación final).
3. Exposición pública y discusión de los resultados obtenidos (equivale al 25% de la calificación final).

EVALUACIÓN ÚNICA FINAL



El artículo 8 de la Normativa de Evaluación y Calificación de los Estudiantes de la Universidad de Granada establece que podrán acogerse a la evaluación única final, el estudiante que no pueda cumplir con el método de evaluación continua por causas justificadas.

Para acogerse a la evaluación única final, el estudiante, en las dos primeras semanas de impartición de la asignatura o en las dos semanas siguientes a su matriculación si ésta se ha producido con posterioridad al inicio de las clases o por causa sobrevenidas. Lo solicitará, a través del procedimiento electrónico, a la Coordinación del Máster, quien dará traslado al profesorado correspondiente, alegando y acreditando las razones que le asisten para no poder seguir el sistema de evaluación continua.

La evaluación en tal caso consistirá en:

1. Realización de una práctica de las realizadas por los alumnos durante el periodo de impartición de la asignatura (equivale al 50% de la calificación final).
2. Realización de un examen sobre los contenidos de la asignatura impartidos (equivale al 50% de la calificación final).

