

INMOVILIZACIÓN DE *Lecanicillium lecanii* PARA LA PRODUCCIÓN DE QUITINASAS Y QUITINA DESACETILASAS EN CULTIVO SUMERGIDO

Ulises Carrasco y Keiko Shirai

Universidad Autónoma Metropolitana, Departamento de Biotecnología, Laboratorio de Biopolímeros. Av. San Rafael Atlixco No.186. Col. Vicentina, México, D.F. C.P. 09340. Tel. (5)804 4921. smk@xanum.uam.mx.

Palabras clave: *Lecanicillium lecanii*, quitinasas, espuma de poliuretano.

Introducción. La inmovilización de hongos filamentosos presenta varias ventajas en comparación con el uso de células dispersas, entre estas se encuentra la fácil separación celular del medio líquido, además de que los cultivos se vuelven menos viscosos lo que conlleva a una mejor transferencia de masa (1). Las enzimas quitinolíticas pueden ser utilizadas como biopesticidas, para la preparación de quitoooligosacáridos bioactivos y en el control de hongos fitopatógenos (2). Las quitina desacetilasas (CDA) pueden ser empleadas en la producción de quitosano (3).

El presente trabajo tiene como objetivo la inmovilización de *Lecanicillium lecanii* en espuma de poliuretano (PUF), para llevar a cabo fermentación sumergida (SmC), evaluando la velocidad de agitación en la producción de enzimas quitinolíticas y quitina desacetilasas.

Metodología. La inmovilización de *Lecanicillium lecanii* ATCC26854 en PUF se llevó a cabo medio Czapeck modificado con 10g/L de quitina coloidal, el tamaño del PUF fue de 0.5cm³. Los matraces fueron inoculados con 10⁷ esporas/g nutrientes (2). Se probaron tres relaciones PUF:medio de cultivo (Cuadro 1). La biomasa inmovilizada con la mejor condición fue inoculada en un bioreactor a pH 4 y 1 vvm. Se varió la velocidad de agitación. Las actividades de β -N-acetilhexosaminidasa (Nhasa), Endoquitinasa (Endo) y quitina desacetilasa (CDA) fueron determinadas (3, 4).

Resultados y discusión. La cantidad de biomasa inmovilizada así como las actividades quitinolíticas fueron afectadas por la relación PUF/medio de cultivo como lo muestra el Cuadro 1. Después de siete días la mayor actividad quitinolítica está presente en la relación 0.5g PUF:100mL de medio, además de que es la condición en la que se determinó menos biomasa en el líquido. Posteriormente con esta condición de inmovilización se realizó SmC en un bioreactor obteniendo la mayor actividad de Nhasa y Endo a 150 rpm como lo muestra la figura 1. Sin embargo a 75 rpm se aprecia la más alta actividad CDA (figura 2).

Conclusiones. En SmC la velocidad de agitación tuvo un efecto significativo sobre las actividades enzimáticas posiblemente debido a la transferencia de masa en el bioreactor y al estrés producido en el microorganismo.

Cuadro 1. Actividades quitinolíticas y biomasa para la inmovilización en PUF.

gPUF/mL medio	Nhasa(U/mg proteína)	Endo(U/mg proteína)	Biomasa Inmovilizada (g/gPUF)	Biomasa en medio líquido (g/L)
0.5/100	0.48±0.06 ^a	64.96±21.72 ^a	154.3±0.02 ^a	0.002±0.00 ^a
0.5/50	0.14±0.01 ^b	20.92±1.03 ^b	146.87±0.01 ^a	0.344±0.12 ^b
0.5/25	0.35±0.04 ^c	20.61±4.82 ^b	72.99±0.00 ^b	0.208±0.00 ^b

Los grupos con letras diferentes presentaron diferencias significativas

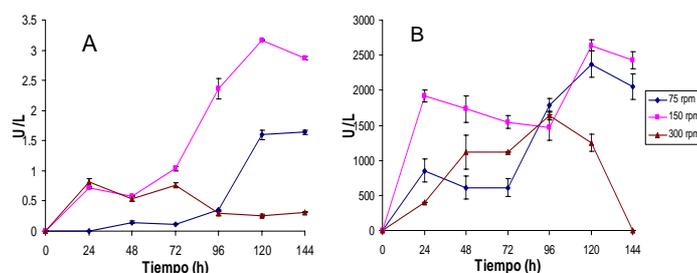


Fig. 1. Efecto de la velocidad de agitación de SmC de *Lecanicillium lecanii* inmovilizado en PUF en la actividad: A) Nhasa, B) Endo.

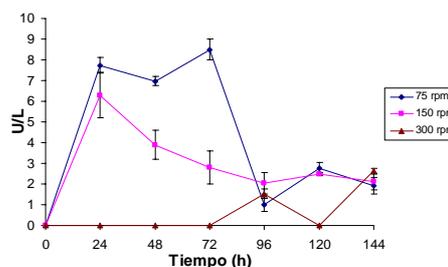


Fig. 2. Efecto de la velocidad de agitación de SmC de *Lecanicillium lecanii* inmovilizado en PUF en la actividad CDA.

Agradecimientos. Al CONACyT por el financiamiento otorgado.

Bibliografía.

- Wang, L, Ridgway, D, Gu, T, Moo-Young, M. (2005). *Biotechnology Advances*. 23: 115-129.
- Marin-Cervantes, MC, Matsumoto, Rocha-Pino, Z, Viniestra G, Shirai, K. (2008). *Process Biochemistry*. 43 (1): 24-32.
- Tsigos, I, Martinou, A, Kafetzopoulos, D, Bouritis, V. (2000) *Trends Biotechnol*. 18: 305-311.
- Tronsmo, A, Harman, G, (1993). *Analytical Biochemistry*. 208: 74-79.