



## PRODUCCIÓN DE GLUCOAMILASA POR *ASPERGILLUS NIGER* 10 EN CULTIVO EN MEDIO SÓLIDO Y CULTIVO SUMERGIDO EN PRESENCIA DE GLUCOSA

Gabriela Carrillo-Sancén<sup>1</sup>, Araceli Tomasini-Campocoso<sup>1</sup>, Gerardo A. Corzo-Burguete<sup>2</sup>, M. Martha Pedraza-Escalona<sup>2</sup>, Ernesto Favela-Torres<sup>1</sup>, <sup>1</sup> UAM-Unidad Iztapalapa, Distrito federal 09340, <sup>2</sup> Instituto de Biotecnología-UNAM, Cuernavaca, Morelos 62210, casaby@hotmail.com

*Palabras clave:* glucoamilasa, biomasa, *Aspergillus niger*.

**Introducción.** Las enzimas amilolíticas son uno de los grupos de enzimas más estudiados y son las encargadas de llevar a cabo la hidrólisis del almidón, un ejemplo son las glucoamilasas (1). Las amilasas son producidas en cultivo sumergido (CS) y en cultivo en medio sólido (CMS). La represión por carbono representa un problema económico serio en la producción de estas enzimas en CS. En la producción de  $\alpha$ -amilasa por *Bacillus licheniformis* en CS se reportó una inhibición completa en la producción de esta enzima al adicionar 10 g/L de glucosa al medio (2). Se ha reportado que el CMS supera esto incluso con la adición de concentraciones elevadas de glucosa (3).

El objetivo de este trabajo fue comparar la producción de glucoamilasa en CMS y CS en presencia de glucosa, una fuente represora de carbono.

**Metodología.** El hongo utilizado fue *Aspergillus niger* 10. Para ambos cultivos se evaluaron concentraciones crecientes de un medio definido con modificaciones (4), se aumentaron todos los componentes del medio de cultivo y se mantuvo fija la relación C/N, ya que se fijó la concentración de almidón (20 g/L) y se aumentó la concentración de glucosa (0, 20, 40 y 80 g/L). El CS se llevó a cabo en matraces Erlenmeyer de 250 mL con 50 mL de medio de cultivo. El CMS se realizó en matraces Erlenmeyer de 125 mL con 3 g agrolita y 4.5 mL de medio de cultivo. Los medios se inocularon con  $1 \times 10^7$  esporas/mL de medio y se incubaron a 30°C. El extracto crudo del CS se obtuvo filtrando con papel Whatman No. 41. El extracto crudo del CMS se obtuvo adicionando 30 mL de agua a la materia fermentada y agitando a 200 rpm durante 5 minutos; posteriormente, se filtró con papel Whatman No. 41. La biomasa que quedó retenida en el papel Whatman No. 41 para ambos cultivos se cuantificó por gravimetría.

La actividad glucoamilasa se determinó usando maltosa como sustrato (5).

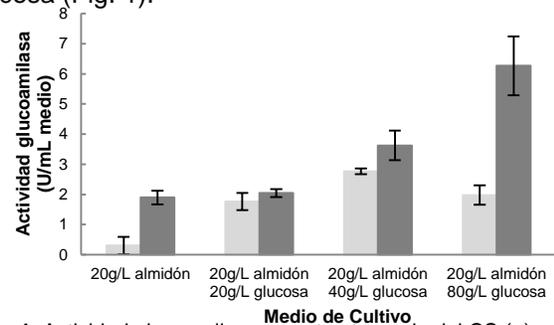
**Resultados.** Se evaluó el aumento en la concentración de nutrientes en un medio de cultivo definido sobre la producción de biomasa y actividad glucoamilasa por *Aspergillus niger* 10 en CS y CMS a los tres días de cultivo. Como se observa en la Tabla 1 en ambos cultivos al aumentar la concentración del medio de cultivo aumentó la producción de biomasa. La producción de biomasa fue mayor en el CMS con respecto al CS a la misma concentración de medio. Además, disminuyó la

producción de biomasa en CS en la concentración más alta con respecto a la concentración anterior.

**Tabla 1.** Producción de biomasa en CS y CMS por *Aspergillus niger* 10 con diferentes concentraciones de medio de cultivo a tres días de incubación. N.D. no determinado.

Medio de Cultivo	Biomasa (mg/mL medio)	
	Cultivo en Medio Sólido	Cultivo Sumergido
20 g/L almidón	N.D.	7.1 $\pm$ 0.7
20 g/L almidón + 20 g/L glucosa	13.82 $\pm$ 0.4	12.9 $\pm$ 1.2
20 g/L almidón + 40 g/L glucosa	19.88 $\pm$ 1.2	15.7 $\pm$ 2.6
20 g/L almidón + 80 g/L glucosa	36.16 $\pm$ 1.5	11.9 $\pm$ 0.9

En CMS la actividad glucoamilasa fue mayor con el aumento en la concentración de glucosa inicial. Este efecto contrario para CS aunque no se llega a reprimir totalmente la actividad en presencia de hasta 80 g/L de glucosa (Fig. 1).



**Fig. 1.** Actividad glucoamilasa en extracto crudo del CS (□) y CMS (■) de *Aspergillus niger* 10 a diferentes concentraciones de medio de cultivo a tres días de incubación.

**Conclusiones.** La producción de biomasa y de actividad glucoamilasa en CMS es más alta que en CS a cualquier concentración del medio de cultivo. Con la concentración más alta del medio de cultivo en CS hay represión por carbono de la producción de actividad glucoamilasa e inhibición por sustrato del crecimiento de *Aspergillus niger* 10.

**Agradecimiento.** Se agradece a CONACYT (beca No. 234626).

### Bibliografía.

- Gupta R., Gigras P., Mohapatra H., Goswami V.K., Chauhan B. (2003). *Process Biochem.* 38: 1599-1616
- Ramesh M.V., Lonsane B.K. (1991). *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 35: 591-593.
- Nandakumar M.P., Thakur M.S., Raghavarao K.S.M.S., Ghildyal N.P. (1999). *Lett. Appl. Microbiol.* 29: 380-384.
- Hill T., Kafer E. (2001). *Fungal Genet. Newsl.* 48: 20-21.
- Withers J., Swift R., Wiebe M., Robson G., Punt P., van den Hondel C., Trinci A. (1998). *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 245: 407-418.