



PRODUCCIÓN DE ENZIMAS FERULOIL ESTERASA EN PULPA DE CAFÉ POR FERMENTACIÓN EN MEDIO SÓLIDO

Gladys G. Pérez-Morales¹, Isaias Nava¹, Danae H. Meza-Trejo¹, Ascensión Ramírez-Coronel¹, Christopher Augur², Gerardo Saucedo-Castañeda¹.

¹Departamento de Biotecnología, UAM-Iztapalapa, Av. San Rafael Atlixco, No. 186, Col. Vicentina, CP 09340, Delegación Iztapalapa, México, D.F., Fax (55) 5804-6554, saucedo@xanum.uam.mx

²IRD, -IMEP Boite 441, Université Paul Cézanne, 13397 Marseille, Francia

Palabras clave: feruloil esterasa, pulpa de café, fermentación en medio sólido

Introducción. La fermentación en medio sólido (FMS) permite utilizar residuos agroindustriales como soporte y fuente de carbono-energía para obtener productos de valor agregado. Debido a su composición la pulpa de café (PC) puede ser un excelente sustrato para la producción de metabolitos microbianos en este sistema¹. Además, se han obtenido mayor producción de enzimas feruloil esterasa¹(FE) y Pectinasa por FMS².

El objetivo del presente trabajo es producir enzimas tipo FE por FMS capaces de liberar el ácido ferúlico de la pared celular de la PC.

Metodología. Se utilizó PC libre de ácidos hidroxicinámicos no esterificados. La FMS fue realizada en dos sistemas: matraces y columnas. Para la fermentación en columna se probó la adición de un medio mineral compuesto de: maltosa, 16 g; tartrato diamonio, 12.3 g; extracto de levadura, 3.4 g; KH₂PO₄, 1.3 g; CaCl₂·2H₂O, 0.09 g y MgSO₄·7H₂O, 3.3 g por 100 g PC seca¹. En ambos sistemas, la pulpa de café húmeda (65-70%) fue inoculada con esporas de un hongo filamentoso (V12307) e incubada a 30 °C durante 90 h y se utilizó una aireación de 20 ml/min. La medición de la actividad respiratoria del hongo se monitorió siguiendo una metodología previamente reportada³. El ensayo enzimático se realizó con un análisis por cromatografía en capa fina utilizando como sustrato etil ferulato en una solución de MOPS 100 mM y como fase eluyente acetato de etilo, benceno, 2- propanol (2:1:0.1) con una duración de 3 h.

Resultados y discusión.

La Fig. 1 muestra la producción de CO₂ para las fermentaciones realizadas en columnas. Se observó una mayor actividad en la pulpa con medio mineral compuesto. La velocidad de crecimiento específica estimada fue mayor en dicho medio ($0.38 \pm 0.01 \text{ h}^{-1}$) comparada con la obtenida en PC sin medio ($0.15 \pm 0.01 \text{ h}^{-1}$). Sin embargo, no se presentaron grandes diferencias en la producción total de CO₂. Esta diferencia en velocidades se debe a la presencia de una fuente de carbono de fácil asimilación.

Después de 90 horas de cultivo, la actividad FE sólo pudo ser detectada en el extracto enzimático crudo de la fermentación realizada en matraces. La Fig. 2 muestra un cromatograma de capa fina obtenido en dicho sistema. Es posible apreciar la aparición de ácido ferúlico en el medio de reacción, estos resultados se confirmaron por HPLC.

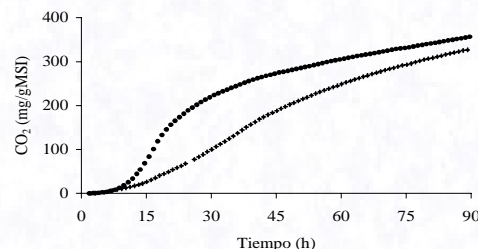


Fig. 1 Producción de CO₂ en fermentación de PC con la cepa V12307 en columna. (•)Medio mineral compuesto, (+)Sin medio.

Por cromatografía en capa fina se observó la hidrólisis del etil ferulato (Rf = 0.91) en ácido ferúlico (Rf = 0.91). Se colocaron muestras de la reacción de etil ferulato en la solución de MOPS con un extracto crudo en 3 carriles y un control realizado de pulpa sin inóculo, además de un estándar de ácido ferúlico (Tabla 1).

Tabla 1. Resultados de cromatografía en capa fina

	Etil ferulato	Ac. Ferúlico
Extracton de medio sin inocular	+	-
Extracción de medio a 90 h de cultivo	+	+

(+) Presencia (-) Ausencia

Conclusiones.

Se encontró actividad FE en un extracto obtenido de PC fermentada usando la cepa V12307.

Agradecimiento. Al financiamiento de CONACYT y al Fondo Sectorial SAGARPA-2005. Proyecto 12182

Bibliografía.

- Asther M., Haon M., Roussos S., Record E., Delattre M., Lesage-Meessen L., Labat M., Asther M. (2002). Feruloyl esterase from *Aspergillus niger* a comparison of the production in solid state and submerged fermentation. *Process Biochemistry* 38: 685 – 691.
- Antier, P. Mijares, A., Roussos, S., Raimbault, M.Y., Viniegra, G. (1993). Pectinase-hiperproducing mutants of *Aspergillus niger* C28B25 for solid-state fermentation of coffee pulp. *Enzyme Microb. Technol.* 15: 254-260
- Saucedo-Castañeda, G. Trejo-Hernández, M.R. Lonsane, B.K. Navarro, J.M. Roussos, S. Dufour, D. Raimbault, M. (1994) On-line automated monitoring and control systems for CO₂ y O₂ in aerobic and anaerobic solid-state fermentations. *Process Biochem.* 29:13-24.