



## EFFECTO DEL ORIGEN DE LA FUENTE DE NITROGENO EN EL CULTIVO DE *Kluyveromyces marxianus* CDBBL 278 EN MEDIO SÓLIDO

Luz Tovar, Mariano García-Garibay y Gerardo Saucedo-Castañeda. Departamento de Biotecnología, UAM-Iztapalapa. San Rafael Atlixco 186, Col. Vicentina, Iztapalapa, México D.F., Fax 58046554, saucedo@xanum.uam.mx

*Palabras clave:* Cultivo en medio sólido, *Kluyveromyces marxianus*, fuente de nitrógeno

**Introducción.** El cultivo en medio sólido (CMS) se distingue de los cultivos sumergidos porque el crecimiento y la formación de productos ocurren sobre la superficie de materiales sólidos con bajo contenido de humedad (1). Por otra parte, *Kluyveromyces marxianus* es una levadura que crece sobre lactosa como única fuente de carbono y energía y ha sido poco estudiada en CMS. El objetivo de este trabajo es evaluar el efecto del origen de la fuente de nitrógeno sobre el cultivo de *Kluyveromyces marxianus* CDBBL 278 en medio sólido.

**Metodología.** Se cultivó la cepa de *K. marxianus* CDBBL 278 en agar papa dextrosa (PDA) durante 24 h a 30 °C. Este cultivo sirvió de base para preparar el inóculo del CMS que se obtuvo de un medio líquido conteniendo 50 g/L de lactosa, sales minerales, incubado durante 24 h a 30 °C y agitado a 150 rpm. El CMS se llevó a cabo en columnas de vidrio empleando espuma de poliuretano (PUF) como soporte y mezclas de sulfato de amonio (SA) y urea (U) como fuente de nitrógeno en las siguientes proporciones (SA:U): 100:0 (MC1); 80:20 (MC2); 60:40 (MC3); 40:60 (MC4); 20:80 (MC5) y 0:100 (MC6). Los medios fueron isonitrogenados con  $N_t=1.85$  g/L. El pH inicial fue de 5.5, 75% de humedad y  $A_w$  de 0.997. El crecimiento se determinó indirectamente mediante la evolución de  $CO_2$  y consumo de  $O_2$  (2), adicionalmente se determinaron rendimientos y actividades enzimáticas (3).

**Resultados y discusión.** Las combinaciones de fuente de nitrógeno empleadas tuvieron poco efecto sobre la humedad y la  $A_w$ . En todos los casos, las fases de retardo, las tasas de actividad respiratoria ( $\mu CO_2$ ) y los tiempos de duplicación celular ( $t_d$ ) se vieron afectadas por la presencia de urea en la fuente de nitrógeno (Tabla 1). De igual manera, pequeñas concentraciones de urea alargan la fase de adaptación del cultivo de esta levadura (Figura 1). La adición de altas proporciones ( $\geq 60\%$ ) inhibe el crecimiento de las levaduras. Los mayores valores de rendimiento y de actividad lactasa e inulinasa se registraron en el caso de los medios que contenían menos del 40% de urea en la fuente de nitrógeno (Tabla 2).

Tabla 1. Etapas de crecimiento del CMS de *K. marxianus* CDBBL 278 con mezclas de SA-U.

Medio de cultivo	Fase de retardo (h)	$\mu CO_2$ ( $h^{-1}$ )	$R^2$	$t_d$ (h)
MC1	13.8	<sup>a</sup> 0.23±.008	0.982	3.1
MC2	17.7	<sup>b</sup> 0.17±.007	0.964	4.1
MC3	17.8	<sup>b</sup> 0.18±.006	0.978	4.0

Letras similares implica que no hay diferencia significativa entre ellas

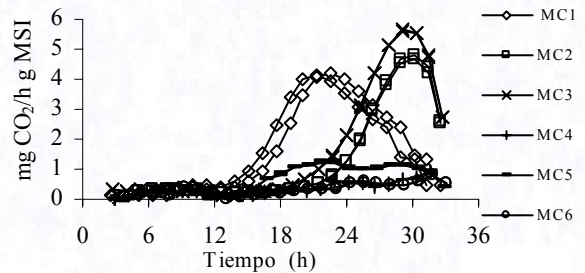


Fig. 1. Tasa de formación de  $CO_2$  durante el cultivo de *K. marxianus* CDBBL 278 en medio sólido con mezclas de SA-U.

Tabla 2. Valores de rendimientos y actividades enzimáticas del CMS de *K. marxianus* CDBBL 278 con mezclas de SA-U.

Medio de cultivo	$Y_{x/s}$	Lactasa (UL/gX)	Inulinasa Extracelular (UI/gX)
MC1	<sup>a</sup> 0.35±.004	<sup>b</sup> 659.7	<sup>b</sup> <b>203.1</b>
MC2	<sup>b</sup> 0.27±.001	<sup>a</sup> 1147.7	<sup>a</sup> <b>241.6</b>
MC3	<sup>a</sup> 0.37±.006	<sup>c</sup> 344.7	<sup>c</sup> <b>69.2</b>
MC4	<sup>c</sup> 0.18±.01	-	<sup>d</sup> 10.7
MC5	<sup>c</sup> 0.19±.01	-	-
MC6	<sup>c</sup> 0.2±.006	-	-

Letras similares implica que no hay diferencia significativa entre ellas

**Conclusiones.** Los resultados obtenidos mostraron que pequeñas concentraciones de urea (20 y 40%) favorecen el crecimiento de *K. marxianus* CDBBL 278 así como las actividades de lactasa e inulinasa. Los valores de actividad lactasa se encuentran dentro de los reportados en la literatura, mientras que la actividad inulinasa es mayor a la reportada en la literatura. Estas consideraciones serán tomadas en cuenta en estudios posteriores.

### Bibliografía.

- Selvakumar, P. y Pandey, A. (1999). Solid state fermentation for the synthesis of inulinase from *Staphylococcus* sp. and *Kluyveromyces marxianus*. *Process Biochemistry*.34:851-855.
- Saucedo-Castañeda, G. y Trejo-Hernández, M. R. (1994). On-line Automated Monitoring and Control systems for  $CO_2$  and  $O_2$  in Aerobic and Anaerobic Solid-State Fermentations. *Process Biochemistry*. 29:13-24.
- Barberis, S. y Segovia, R., 2002. Maximum volumetric production of  $\beta$ -galactosidase by *Kluyveromyces fragilis* in fed-batch culture with automatic control. *J. Chem Technol. Biotechnol.* 77:706-710.

**Agradecimientos:** CONACYT