

DESARROLLO DE UN METODO ENZIMATICO PARA LA ESTIMACION DEL CRECIMIENTO FUNGICO EN CULTIVO EN ESTADO SOLIDO

Daniel Boone Villa¹, Octavio Loera Corraf², Juan Carlos Contreras Esquivel¹,
Raúl Rodríguez¹ y Cristóbal Noé Aguilar^{1*}

1. Departamento de Investigación en Alimentos. Universidad Autónoma de Coahuila, Unidad Saltillo, México.

2. Departamento de Biotecnología. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa, México.

*Correo electrónico: cag13761@mail.uadec.mx

Introducción. La estimación de la biomasa es un parámetro fundamental en la caracterización del crecimiento microbiano (Durand y col., 1995). En cultivos sumergidos (CSm) la biomasa se estima directamente por análisis gravimétrico sin presentar problemas, mientras que en los procesos de cultivo en medio sólido (CMS) la estimación de la biomasa tiene severas limitaciones por las interferencias que presentan los sustratos y/o soportes en los ensayos químicos y por la dificultad en la separación de la biomasa de las estructuras fibrosas o granulares de la matriz sólida (Viniestra González, 1995). Se han hecho diversos esfuerzos para desarrollar metodologías que permitan la estimación de la biomasa producida en CMS, sin embargo, dichos métodos poseen ciertas desventajas que dependen del CMS evaluado. Roche y col (1993) desarrollaron un método eficiente para la estimación de la biomasa en CMS a través de la evaluación de la glucosamina, sin embargo, tiene desventajas por el pretratamiento ácido térmico al que se someten las muestras.

El objetivo del presente trabajo fue desarrollar una metodología enzimática para estimar el crecimiento fúngico en CMS a través de la evaluación del contenido de glucosalina.

Metodología. El sistema modelo de CMS empleado incluyó el uso de la cepa Aa20 de *Aspergillus niger* (colección UAMI-IRD) y de espuma de poliuretano como soporte. El medio de cultivo fue el Czapek Dox con glucosa como única fuente de carbono y energía. El CMS se evaluó cinéticamente durante un periodo de 56 horas y la masa fermentada se trato con enzima quitinasa CHIMAX N10 en una solución amortiguadora de acetatos pH 4.5 por 12 horas a 40°C. La glucosamina liberada se evaluó por el método de Somogy y Nelson, para azúcares reductores. Las lecturas obtenidas se corrigen al restar el contenido de azúcares reductores del medio de cultivo.

Resultados y discusión. Los resultados obtenidos de las cinéticas de crecimiento de *Aspergillus niger* Aa-20 en cultivo en medio sólido sobre espuma de poliuretano nos permiten establecer que la metodología

de hidrólisis enzimática de la quitina de la pared celular de las hifas miceliales y la posterior evaluación espectrofotométrica de la glucosamina es una opción atractiva en la caracterización del crecimiento fungico en procesos de CMS. La Figura 1 muestra que los resultados de los valores obtenidos bajo este protocolo son mejores que aquellos obtenidos por la cuantificación de proteína, debido a la definición de las diferentes etapas del crecimiento.

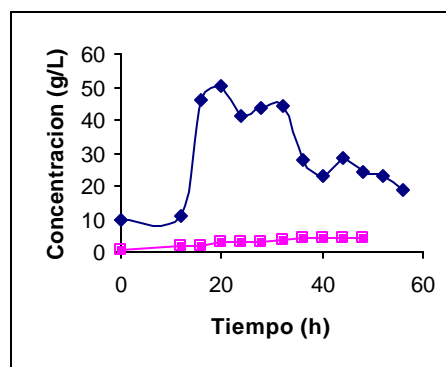


Figura 1. Curva de crecimiento de *A. niger* en CMS. (Δ) glucosamina y (◻) proteína

Conclusiones. Los resultados obtenidos nos permiten establecer que la metodología de estimación de la biomasa a través de la hidrólisis enzimática de la pared celular del hongo es una opción viable para la cuantificación del crecimiento microbiano.

Bibliografía.

- Durand, A., Vergoignan, C. Desgranges, M. 1995. Biomasa estimation in solid state fermentation. Advances in solid state fermentation. Kluwer Academia Publishers. The Netherlands.
- Viniestra-González, G. 1995. Solid state fermentation: definitions, characteristics, limitations and monitoring. Advances in solid state fermentation. Kluwer Academia Publishers. The Netherlands.
- Roche, N., Venage, A. Desgranges, C. Durand, A. 1993. Use of chitin measurement to estimate fungal biomass in solid state fermentation. *Biotechnol. Adv.* 11, 677-683.