

# ACTIVACIÓN DE TRES CEPAS FÚNGICAS PARA LA PRODUCCIÓN DE TANASA.

Nava- Arenas, D., Hernández- Sánchez, H. Instituto Politécnico Nacional, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Departamento de Graduados e Investigación en Alimentos, Prol. De Carpio y Plan de Ayala s/n Col. Plutarco Elias Calles, Del. Miguel Hidalgo, Tel. 57 29 60 00 Ext. 62 462 deni\_nava@hotmail.com

Palabras clave: tanasa, fermentación, hongos.

**Introducción.** Los taninos contribuyen a la astringencia de los alimentos y a las reacciones de pardeamiento enzimático. La tanin acil hidrolasa (EC 3.1.1.20) comúnmente llamada tanasa, es una enzima inducible generada por hongos, bacterias y levaduras en presencia de galotaninos, hidroliza enlaces éster en galotaninos, por tanto, libera ácido gálico y residuos de glucosa (1). La tanasa es una enzima de importancia industrial y tiene varias aplicaciones, las principales son: la bioconversión de ácido tánico a ácido gálico, la elaboración de vino y el mejoramiento de el procesamiento de té instantáneo (4). Se sabe que un gran número de microorganismos incluyendo hongos, bacterias y levaduras, producen tanasa. Yamada *et al.* (1967) observaron la producción de tanasa en 80 cepas de diferentes hongos.

El objetivo de este trabajo fue determinar las condiciones de activación de las cepas de *Pleurotus ostreatus*, *Rhizopus oligosporus* y *Aspergillus niger*, para inducir la producción de tanasa.

## Materiales y Métodos.

Cepas. *Rhizopus oligosporus* NRRL-2710, *Aspergillus niger* NRRL 326, *Aspergillus oryzae* NRRL 1989 y *Pleurotus ostreatus* (aislada de fructificaciones).

Actividad enzimática. El grado de hidrólisis de los enlaces éster en el ácido tánico, fue estimado de acuerdo al método reportado por Ibuchi (6)

Determinación de ácido tánico. Se determinó en el filtrado por el método por Hagerman y Butler (5).

Determinación de ácido gálico. Se utilizó el método reportado por Sharma (7).

Determinación de proteína. Se realizó de acuerdo al método de Bradford.

## Resultados y Discusión

Activación de la cepa de *Pleurotus ostreatus*. Se aisló la cepa de *Pleurotus ostreatus*, sin embargo, el medio de activación no se pudo determinar debido a su largo periodo de adaptación y crecimiento y a que las condiciones en que se desarrolla el micelio son muy estrictas, la cepa difícilmente crece en un medio en que no existan las condiciones óptimas para su desarrollo por esto, se descartó su uso como productor de tanasa.

Activación de la cepa de *Rhizopus oligosporus*. El medio de activación propuesto para la cepa de *R. oligosporus* fue Agar Czapek Dox (ACD) con ácido tánico al 0.1%, de acuerdo con la técnica descrita por Chatterjee (2). Se observó un cambio en la morfología del hongo con crecimiento levaduriforme en colonias dispersas, duras, sin micelio aparente, opacas de color verde pastoso blanquecino, y de bordes lisos que al ser

inoculadas en placas de AEM regresaron a su estado micelia, esto se atribuye a las condiciones de estrés a las que fue sometido el microorganismo. El crecimiento obtenido se utilizó como inóculo para experimentos con contenidos más elevados de ácido tánico, concentraciones a las cuales se induciría la producción de tanasa, sin embargo, se observó a cabo un cambio drástico de color en el medio en las 24h de incubación que impedía identificar incluso la presencia o ausencia de biomasa; al reducir la cantidad de nitrato de sodio a 2.5 g/L, se inhibió la coloración. Se realizó una cinética microbiana, registrando la disminución de ácido tánico, la aparición de ácido gálico así como la actividad enzimática, a diferentes tiempos en el extracto crudo; las variables de operación fueron: 28 °C, 1% ácido tánico, 1% de glucosa, pH 4 y agitación a 150 rpm. Las tendencias mostradas indican que aunque baja, si hay cierta actividad presente (6 U/mL). Si comparamos los valores de actividad enzimática obtenidos con algunos otros reportados para diferentes microorganismos, se observa claramente que son muy bajas.

Activación de la cepa de *Aspergillus niger*. Se activó la cepa de *Aspergillus niger* en ACD con 0.1% de ácido tánico (al igual que en el caso de *R. oligosporus*) y se realizó una cinética elaborada bajo las mismas condiciones de cultivo pero por 96 h en que la actividad enzimática alcanza las 80 U/mL.

**Conclusión.** Las cepas de *P. ostreatus* y de *R. oligosporus* empleadas mostraron no ser utilizables para la producción de tanasa, mientras que *A. niger* NRRL 326 demostró ser buena productora lo que la hace susceptible de posteriores estudios.

## Bibliografía.

1. Bajpai, B. y Patil, S. (1997). Induction of tannin acyl hydrolase (E.C. 3.1.1.20) activity in some members of fungi imperfecti. *Enzyme and Microbial Technology*. vol. 20: pag. 612- pag. 614
2. Chatterjee, R., Dutta, A., Banerjee, R. y Bhattacharyya, B.C. (1996). Production of tannase by solid-state fermentation. *Bioprocess Engineering*. vol. 14.
3. Fennema, O.R. (1993). *Química de los alimentos*. Ed. Acribia, S.A. Zaragoza, España. pag. 639- pag. 640
4. Hadi, T.A. y Banerjee, B.C. (1994). Optimization of tannase biosynthesis by a newly isolated *Rhizopus oryzae*. *Bioprocess Engineering*. vol. 11: pag. 239- pag. 243
5. Hagerman A.E. y Butler, L.G. (1978). Protein precipitation method for the quantitative determination of tannins. *J. Agric. Food Chem.* vol. 26(4): pag. 809- pag. 812
6. Ibuchi S., Minoda Y. y Yamada K. (1967). Study of acyl hydrolase of microorganism III. A new method of determining enzyme activity a change in ultra violet absorption. *Agr. Biol. Chem.* vol. 31: pag. 513- pag. 518