

EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE PRODUCCIÓN DE SISTEMAS ENZIMÁTICOS COMPLEJOS POR CEPAS DE *Aspergillus*.

Marisol Orozco, Blanca Trejo-Aguilar, Guillermo Aguilar. Departamento de Alimentos y Biotecnología, Laboratorio 312, Conjunto E, Facultad de Química, UNAM. 5622-5306
gao@servidor.unam.mx

Palabras clave: *Cepas autóctonas*, *Polisacararas*, *Aspergillus*.

Introducción: Los hongos del género *Aspergillus* son usados industrialmente para la producción de metabolitos primarios⁽¹⁾, ya que al tener un estilo de vida saprofito, son capaces de utilizar un rango muy amplio de materiales como fuente de nutrición y por ende poseen la capacidad de producir un sinnúmero de enzimas, generalmente extracelulares⁽²⁾. En particular, puede producir un amplio rango de enzimas degradadoras de polisacáridos de pared celular de plantas (polisacararas)⁽³⁾. El aislamiento y selección de cepas nuevas a partir de materia orgánica en descomposición es una alternativa en la búsqueda de enzimas con mejores propiedades. Así mismo esta estrategia contribuye al conocimiento y caracterización de microorganismos silvestres que tienen como ventajas el encontrarse adaptados a condiciones ambientales cambiantes, y que se han seleccionado en forma natural de su hábitat común lo que los hace interesantes para su uso en procesos microbianos. Además, su uso y posesión no están condicionados por colecciones microbianas internacionales. Los métodos de aislamiento y selección usualmente combinan el uso de medios sólidos en placa y medios líquidos. Sin embargo, es importante definir el tipo de proceso en el que se van usar los microorganismos seleccionados ya que se ha encontrado que cepas seleccionadas en medio sólido no son muy buenos productores en medio líquido y viceversa⁽⁴⁾.

El objetivo principal de este proyecto es identificar cepas productoras de enzimas extracelulares, cuyas propiedades favorezcan su utilización en la modificación de polisacáridos de aplicación en alimentos, a partir de un grupo de cepas tropicales autóctonas de *Aspergillus*. y comparar los resultados de la selección en medio sólido y líquido con algunas de las cepas productoras. Además se determinará qué sistemas enzimáticos extracelulares produce cada cepa utilizada, para degradar almidón, pectina y xilano.

Metodología: Un total de 54 cepas tropicales autóctonas de *Aspergillus*, se sembraron en medio sólido con una única fuente de carbono: pectina, almidón o xilano. Se evaluó la producción enzimática utilizando colorantes capaces de revelar la degradación del polisacárido en el medio (halos). Las cepas que presentaron mayor actividad enzimática se probaron en medio líquido con el polisacárido correspondiente, al igual que cepas control que presentaron menor actividad enzimática. Se evaluó la actividad enzimática por grupos reductores (Método DNS), se obtuvo un perfil de proteína mediante SDS-PAGE, y la evaluación de su actividad mediante zimogramas.

Resultados y discusión: Las cepas de *Aspergillus* fueron crecidas en pectina, xilano y almidón en placa, e incubadas a

37°C. Se cuantificó el tamaño de la colonia y el diámetro del halo de degradación del polisacárido. De las 54 cepas, todas crecieron y produjeron halo de degradación en pectina. En almidón crecieron 50 y sólo 20 (38.4%) produjeron halo de degradación, en xilano de abedul 51 fueron capaces de crecer y solamente 19 (36.5%) produjeron halo; por último, en xilano de avena 51 crecieron y produjeron halo (98%). Para clasificar y seleccionar las cepas con mayor actividad se calculó la relación diámetro del halo sobre diámetro de la colonia (H/C). Se seleccionaron las de relación H/C más alta. Paralelamente, las 52 cepas fueron crecidas en medio líquido. Al cabo de 72 horas de crecimiento se recuperó el filtrado libre de células y se le midió la actividad enzimática. De acuerdo a estos resultados se seleccionaron las cepas con mayor producción enzimática, y se compararon con las seleccionadas en placa.

Para pectina, las mejores cepas productoras en placa son: 10,160, 290, 420, 480 y 370; en medio líquido son 40,50,130, 140, 180, 320 y 400. Para almidón, las mejores cepas en placa son: 10, 260, 270 y 290; en medio líquido son: 30, 40, 80, 550. En forma interesante, las cepas seleccionadas como mejores productoras en medio sólido no coinciden con aquellas seleccionadas como mejores en medio líquido.

Conclusiones: Cada una de las cepas tiene la capacidad de producir al menos uno de los sistemas enzimáticos buscados. Algunas de las cepas, producen sistemas con mayor actividad enzimática que las demás. Para seleccionar una cepa, debe primero definirse el tipo de proceso en el que se va a usar. Los filtrados enzimáticos obtenidos podrán ser aplicados en procesos que requieran la degradación del polisacárido en que hayan sido producidos.

Agradecimientos: Presupuesto PAIP, Facultad de Química, UNAM.

Bibliografía:

1. Parenicová, L. (2000) Pectinases of *Aspergillus niger*: A molecular and biochemical characterisation. Tesis Doctorado. Wageningen University. Holanda. Pág 2-28.
2. Rodríguez, P. B (1998) Identificación de algunos inductores de las pectinasas extracelulares producidas por *Aspergillus* sp FP180. Tesis Maestría. UNAM. México, DF., pág 17.
3. De Vries, R. (1999) Accessory enzymes from *Aspergillus* involved in xylan and pectin degradation. Tesis Doctorado. Wageningen Agricultural University. Holanda. Pág 2-6.
4. Minjares-Carranco, Trejo-Aguilar, B. (1997) Physiological comparison between pectinase-producing mutants of *Aspergillus*

niger adapted either to solid-state fermentation or submerged fermentation. *Enzyme Microb. Technol.* (21):26-31.