



# XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



## EFFECTO DE DIFERENTES FUENTES DE CARBONO Y NITRÓGENO EN LA PRODUCCIÓN DE ENZIMAS QUITINA DESACETILASAS DE *Colletotrichum gloeosporioides* EN MEDIO DE CULTIVO SUMERGIDO

Neith Pacheco y Keiko Shirai

Universidad Autónoma Metropolitana, Departamento de Biotecnología, Laboratorio de Biopolímeros. Av. San Rafael Atlixco No.186. Col. Vicentina, México, D.F. C.P. 09340. Tel. (5)5804 4921. [smk@xanum.uam.mx](mailto:smk@xanum.uam.mx)

**Introducción.** La producción enzimática de quitosano mediante el uso de quitina desacetilasas (CDAs), enzimas que catalizan la hidrólisis de los enlaces N-acetamida de la quitina, representan una alternativa a las altas concentraciones de ácido y álcalis utilizadas en el método químico (1).

El objetivo de este trabajo fue evaluar las diferentes fuentes de carbono (C) y nitrógeno (N) en la producción de CDAs de *Colletotrichum gloeosporioides* en medio de cultivo sumergido.

**Metodología.** Se emplearon como fuentes de C: glucosa, sacarosa, fructosa, quitina coloidal y de N: Ac. glutámico (AG), extracto de levadura (EL),  $\text{NaNO}_3$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , fijando una relación C/N de 13.8. Los medios fueron ajustados a pH inicial de 6 e incubados a 28°C por 144h. La cantidad de biomasa fue determinada mediante diferencia en peso seco, las tasas de crecimiento ( $\mu$ ) y máxima producción de biomasa ( $X_{max}$ ) del hongo, fueron obtenidas mediante ajustes con el modelo logístico. La actividad desacetilasa de las CDAs fue determinada por el método de Kauss y Bauch (2).

**Resultados.** Las velocidades de crecimiento mostraron la  $\mu$  más alta utilizando glucosa y sacarosa como fuentes de C en combinación con EL, sin embargo la mayor  $X_{max}$  se obtuvo con AG utilizando cualquier fuente de C (Tabla 1). El AG y EL han sido principalmente utilizados como fuente de N para el crecimiento de *Colletotrichum gloeosporioides* (1).

Tabla 1. Tasas de crecimiento ( $\mu$ ) y máxima producción de biomasa ( $X_{max}$ ) en cultivos con diferentes fuentes de C y N.

Fuente de Nitrógeno	Fuente de Carbono	$\mu$ (1/h)	$X_{max}$
Ac. G (0.66%)	Glucosa (1.5%)	0.10±0.03	0.30±0.02
EL (0.5%)		0.136±0.02	0.27±0.01
$\text{NaNO}_3$ (0.32%)		0.046±0.01	0.11±0.01
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (0.27%)		0.053±0.02	0.10±0.01
Ac. G (0.66%)	Sacarosa (1.5%)	0.07±0.01	0.30±0.01
EL (0.5%)		0.097±0.01	0.25± 0
$\text{NaNO}_3$ (0.32%)		0.082±0.05	0.12±0.01
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (0.27%)		0.064±0.02	0.21±0.02
Ac. G (0.66%)	Fructosa (1.43%)	0.035±0.01	0.34±0.09
EL (0.5%)		0.076±0.01	0.25± 0
$\text{NaNO}_3$ (0.32%)		0.049±0.02	0.09±0.01
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (0.27%)		0.046± 0	0.22±0.01

$R^2$  del ajuste  $\geq 0.94$ .

Los resultados de actividad enzimática mostraron que la utilización de AG y  $\text{NaNO}_3$  como fuentes de N, produjeron la mayor actividad específica de CDAs,

siendo significativamente superiores en los medios con glucosa y sacarosa ( $p < 0.05$ ). Las cinéticas de actividad indicaron tanto para glucosa, sacarosa y quitina coloidal, la máxima producción de CDAs a las 96h (Figura 1). A pesar de que la glucosa es conocida como represor catabólico para diferentes enzimas quitinolíticas e inducibles (3), en el presente trabajo, el uso de glucosa y sacarosa produjeron valores de actividad enzimática mayores a 0.05 U/mg de proteína, mostrando un máximo de actividad de 0.091 U/mg de proteína con el uso de sacarosa y AG, valor superior a lo reportado para *Colletotrichum lindemutianum* (4). Los valores fueron menores a 0.055 UA/mg de proteína para fructosa y quitina coloidal.

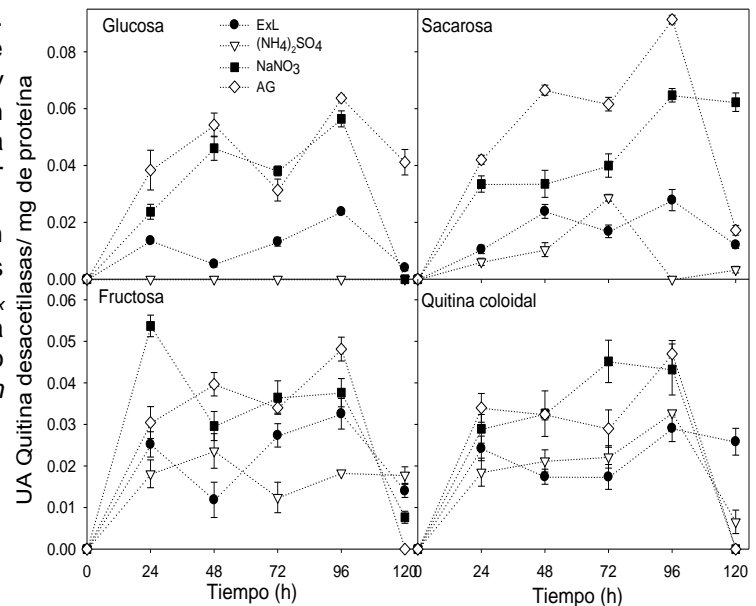


Fig. 1. Cinéticas de actividad de CDAs a diferentes fuentes de C y N.

**Conclusiones.** La mejor combinación de fuente de C y N para producción de CDAs fue sacarosa y AG al mostrar un máximo de actividad de 0.088 U/mg de proteína a las 96h, significativamente diferente ( $p < 0.05$ ).

**Agradecimiento.** Los autores de este estudio agradecen a CONACyT No. 105628 por el financiamiento otorgado

### Bibliografía.

- (1) Tsigos, I., Martinou, A., Kafetzopoulos, D., Bouriotis, V. Trends Biotechnol. (2000). 18:305-311.
- (2) Kauss, H. y Bauch, B. (1988). Methods in Enzymology 161: 518-523.
- (3) Marin-Cervantes MC, Matsumoto Y, Ramírez-Coutiño L, Rocha-Pino Z, Viniestra G Shirai K. (2008). Process Biochem. 43 (1): 24–32.
- (4) Tokuyasu, K., Ohnishi-Kameyama, Hayashi, K. (1996). Biosci. Biotech. Biochem., 60 (10):1598-1603