



# XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



## EFECTO DE LA ACTIVIDAD DE AGUA SOBRE LA EXPRESIÓN DE GLUCOAMILASA POR *Aspergillus oryzae* EN CULTIVO INMOVILIZADO.

Ivan A. Gallegos Almanza, Luis Zepeda Tamez, Roberto A. Martínez Campos, Sergio de J. Romero-Gómez. Laboratorio de Fermentaciones. Facultad de Química. Universidad Autónoma de Querétaro, CU, Cerro de las Campanas s/n, Col. Las Campanas. Querétaro. Qro. CP: 76010. [ser69rom@gmail.com](mailto:ser69rom@gmail.com).

### *Glucoamilasa B, Aspergillus niger, cultivo inmovilizado.*

**Introducción.** Se ha reportado de manera repetida que los niveles de producción de enzimas por hongos filamentosos en fermentación sólida (SSF) es mayor a los niveles producidos en fermentación sumergida (SmF)<sup>(1)</sup>. La razón de esto ha sido dilucidada solo de manera parcial debido a que el sistema de fermentación sólida es muy complejo para ser analizado a nivel molecular de una manera inequívoca<sup>(2)</sup>, por lo que hemos estado trabajando en el desarrollo de un sistema de cultivo inmovilizado (CI) basado en el uso de la espuma de poliuretano como soporte inerte<sup>(3)</sup>. Se ha postulado que la expresión de Glucoamilasa por *Aspergillus oryzae* en SSF podría estar regulada tanto por la  $a_w$  como por la presencia de un soporte complejo<sup>(4,5)</sup>. El uso de la espuma de poliuretano como soporte inerte, nos ha permitido modificar la  $a_w$  sin modificar la composición del medio usado en fermentación sumergida.

El objetivo de este trabajo es determinar el efecto de la depresión de la actividad de agua sobre la expresión y producción de la glucoamilasa por *Aspergillus oryzae* en cultivo inmovilizado.

**Metodología.** Se usó una cepa silvestre de *A. oryzae* (cepario UNAM) que se cultivo en SmF y en CI usando medio mínimo salino suplementado con 100 g/L de almidón. Los cultivos inmovilizados se realizaron sobre espuma de poliuretano<sup>(3)</sup>. La actividad de agua se ajustó desde 0.99 hasta 0.96 disminuyendo la cantidad de agua de los cultivos. La actividad de glucoamilasa se determinó por medio de la liberación de azúcares reductores de acuerdo con el método de Miller, 1959.

**Resultados.** La producción de glucoamilasa por *A. oryzae* en CI usando las mismas condiciones de cultivo fue de 319.8 U/L, un 73% mayor a la obtenida en SmF que fue de 184.7 U/L, mientras que la producción de biomasa en CI fue de 16.2 g/L contra 22.6 g/L en SmF, solo un 40% mayor. Esto nos indica que la mayor producción de glucoamilasas no puede ser explicada solamente por un aumento en la producción de biomasa, si no probablemente por el cambio en el tipo de crecimiento, dado que las condiciones de cultivo fueron exactamente las mismas. Al disminuir la  $a_w$  en CI, se observó un incremento sostenido en la producción de glucoamilasa, sin una modificación importante de la

biomasa obtenida en los cultivos, las producciones mas altas de glucoamilasa se obtuvieron con los valores de  $a_w$  mas comunes para SSF (0.96-0.97), esto nos indica que la producción de glucoamilasas por *A. oryzae* en CI se determina por la regla principalmente por la disponibilidad de agua en el cultivo, aunque, los resultados obtenidos en SmF y CI sin modificar la  $a_w$  de 0.99, nos indican que el tipo de crecimiento también juega un papel importante en la regulación de la producción de las glucoamilasas por *A. oryzae* y ambos factores permiten obtener una mayor producción en SSF. Actualmente, estamos trabajando para probar si la glucoamilasa obtenida en CI es *glaB* como se ha reportado que sucede en SSF<sup>(5)</sup>, para esto se está trabajando en el análisis de zimografía y expresión de los genes *glaA* y *glaB* por Retro-PCR.

**Tabla 1.** Producción de biomasa y glucoamilasa por *A. oryzae* en fermentación sumergida y cultivo inmovilizado, usando almidón como inductor .

$a_w$	Biomasa (g/L)	Glucoamilasa (U/L)
0.99	22.6	319.8
0.98	21.8	325.5
0.97	19.9	466.6
0.96	19.1	415.9

**Conclusiones.** La depresión de la actividad de agua en cultivo inmovilizado permitió aumentar la producción de glucoamilasa por *A. oryzae*, sin modificar la producción de biomasa de manera importante.

**Agradecimiento.** Se agradece a PROMEP por el proyecto PTC-119.

### Bibliografía.

1. Pandey A. (2003) *Biochem Engineer J.* 13: 81-84.
2. Viniestra-González G, Favela-Torres E, Aguilar CN, Romero-Gomez SJ, Diaz-Godinez G, Augur C. (2003) *Biochem Engineer J.* 13:157-167.
3. Romero-Gómez SJ, Augur C, Viniestra-González G. (2000) *Biotechnol Lett.* 22:1255-1258.
4. te Biesebeke R, van Biezen N, de Vos WM, van den Hondel CA, Punt PJ (2005). *Appl Microbiol Biotechnol.* 67(1): 75-82.
5. Kobayashi A, Sano M, Oda K, Hisada H, Hata Y, Ohashi S. (2007) *Biosci Biotechnol Biochem.* 71(7):1797-1799.