



# XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



## EFECTO DE LA FUENTE DE NITRÓGENO EN LA PRODUCCIÓN DE INULINASAS UTILIZANDO JUGO DE *Agave tequilana* Weber var. Azul COMO SUSTRATO

Blanca Garnica<sup>1</sup>, Luis Gutiérrez<sup>1</sup>, Jesús Villegas<sup>1</sup>, Carlos Huitrón<sup>2</sup>, Mauricio A. Trujillo-Roldán<sup>1</sup>, Abel Blancas<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Unidad de Bioprocesos, <sup>2</sup>Departamento de Biología Molecular. Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM.  
C.P. 04510. México D.F., e-mail: planta@servidor.unam.mx, qa.stl06@gmail.com

*Palabras clave:* Jugo de agave, inulinasas, fuentes de nitrógeno orgánico.

**Introducción.** La cepa *Aspergillus niger* CH – A – 2010 que fue aislada de los campos de *Agave tequilana* Weber, es capaz de producir enzimas de interés, cuando utiliza penca de *Agave*, como sustrato, entre ellas inulinasas, las cuales tienen un potencial para desarrollar productos de interés biotecnológico, como fructosa y fructooligosacáridos (FOS), (Huitrón, 2008). Se ha reportado que en *Kluyveromyces marxianus* YS-1 la producción de inulinasas, se ve afectada por el tipo de fuente de nitrógeno adicionado al medio de cultivo (Singh, 2007). El propósito de este trabajo es evaluar el efecto de algunas fuentes de nitrógeno sobre la producción de inulinasas de *A. niger* en fermentaciones sumergidas utilizando jugo de agave como sustrato.

**Metodología.** A partir de la cepa *A. niger* CH – A – 2010 conservada en glicerol, se realizó la propagación en placas con PDA y se incubaron a 37°C por 5 días. El inóculo se preparó cosechando las esporas en 20 mL de agua estéril. Todas las fuentes de nitrógeno se usaron al 0.4% (extracto de levadura, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, peptona de caseína, agua de cocimiento de maíz y harina de soya). Además, jugo de agave al 1.0% como fuente de carbono, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.05%, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.05% y un inóculo de esporas al 0.05% (con una absorbancia de 0.5 a 540 nm). Los cultivos se llevaron a 37°C y 200 rpm en un biorreactor Applikon de 2.0 L. Se tomaron muestras de 10 mL cada 24 h a partir del tiempo cero. Se determinó la actividad enzimática (Ohta K., 2004) y la biomasa por gravimetría.

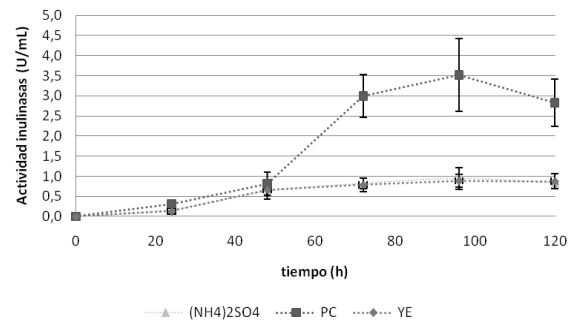
**Resultados.** Al comparar la actividad inulinolítica de *A. niger* en los medios con diferentes fuentes de nitrógeno, se observó que las fuentes orgánicas empleadas con respecto al sulfato de amonio (fuente inorgánica de nitrógeno) incrementan el nivel de actividad, mientras que de éstas, la harina de soya es la que presenta mayor actividad (Tabla 1).

**Tabla 1.** Actividad inulinolítica bajo diferentes fuentes de nitrógeno.

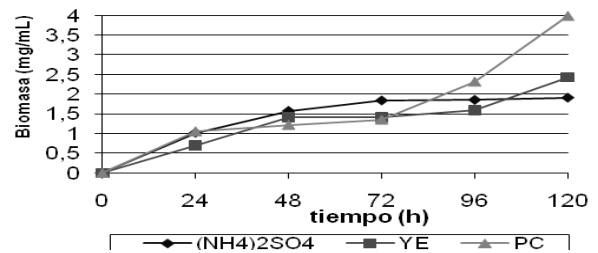
Fuente de nitrógeno	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	YE <sup>1</sup>	PC <sup>2</sup>	ACM <sup>3</sup>	HS <sup>4</sup>
Actividad (U/mL)	0.97	0.98	3.5	2.2	4.1
Tiempo (h)	96	96	96	120	120

<sup>1</sup>Extracto de levadura, <sup>2</sup>peptona de caseína, <sup>3</sup>agua de cocimiento de maíz, <sup>4</sup>harina de soya.

La producción enzimática de *A. niger* cuando se utilizan fuentes de nitrógeno grado analítico, parece estar asociada al crecimiento. Se observa además, un mayor nivel de actividad y producción de biomasa al emplear peptona de caseína (Gráficas 1 y 2).



**Gráfica 1.** Fermentación a nivel de matraz Fembach para la producción de inulinasas utilizando jugo de agave como fuente de carbono.



**Gráfica 2.** Producción de biomasa en cultivo con peptona de caseína, extracto de levadura y sulfato de amonio.

**Conclusiones.** La cepa de *Aspergillus niger* CH-A-2010 es capaz de producir inulinasas cuando se utiliza jugo de *Agave tequilana* Weber como sustrato y la adición de fuentes de nitrógeno orgánico favorece la producción de inulinasas en cultivo sumergido. De las fuentes de nitrógeno evaluadas, la harina de soya y la peptona de caseína parecen favorecer mayormente la producción de inulinasas cuando se utiliza jugo de agave como fuente de carbono.

### Bibliografía.

- C. Huitrón, et al. Agricultural waste from the tequila industry as substrate for the production of commercially important enzymes. *J. Environ. Biol.* (2008) 29 : 37 – 41.
- R.S. Singh, et al. Optimization of medium and process parameters for the production of inulinase from a newly isolated *Kluyveromyces marxianus* YS-1. *Bioresource technology* 98 (2007) 2518-2525
- Ohta K., et al., Fungal inulinases: Ezymology, Molecular, Biology and Biotechnology. *J. Appl. Glycosci.* 51 (2004) : 247-254