

# PRODUCCIÓN DE QUITINASAS POR *Verticillium lecanii* EN FERMENTACIÓN EN MEDIO SÓLIDO Y LÍQUIDO UTILIZANDO COMO SUSTRATO QUITINA DE DESECHOS DE CAMARÓN

Yoyi Matsumoto, Sergio Revah, Gerardo Saucedo y Keiko Shirai

Departamento de Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa.

Av. San Rafael Atlixco No. 186. Col. Vicentina Iztapalapa. D.F. Fax (5804 47 12)

e-mail: yoyi@xanum.uam.mx / smk@xanum.uam.mx

Palabras clave: medio líquido, medio sólido, quitinasa.

**Introducción.** *Verticillium lecanii* mostró una alta actividad quitinolítica utilizando quitina coloidal en fermentación en medio líquido (FML) (1). *V. lecanii* fue reconocido como un productor potencial en cultivo en fermentación en medio sólido (FMS) y líquido utilizando quitina cruda (2).

El propósito de este trabajo fue establecer diferentes condiciones de cultivo, tales como fuente de carbono, pH, tipo de inóculo, humedad y la adición de 1% sacarosa para producir quitinasas en FML y FMS.

**Metodología.** *V. lecanii* ATCC 26854 se cultivó en FML en matraces de 250 mL con medio czapeck modificado, variando pH, fuente de carbono y tipo de inóculo. En FMS se cultivó en columnas de vidrio usando como soporte bagazo de caña, se varió el porcentaje de humedad, tipo de inóculo y se agregó 1% de sacarosa. La actividad quitinolítica se determinó por la liberación de *p*-nitrofenol y la proteína por Bio-Rad. El crecimiento en FMS fue medido por la producción de CO<sub>2</sub> [3].

**Resultados y Discusión.** El efecto del pH inicial sobre la producción de quitinasas en FML fue evaluado. La mayor producción se encontró a los pHs de 4, 5, 6; mientras que en los pH de 7,8,9 la actividad quitinolítica disminuyó drásticamente. Posteriormente se realizaron cinéticas a pH controlado, en donde solo a pH 6 se detectó actividad quitinolítica. Variando la fuente de carbono y tipo de inóculo, a pH 6, se evaluó la actividad quitinolítica a través del tiempo los resultados se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Niveles máximos de actividad quitinolítica.

Fermentación y condiciones		Inóculo	A (U <sup>a</sup> / g de quitina)	Tiempo de producción (h)
Líquida	Coloidal	Esporas	162.5	144
		Micelio	838	96
	Cruda	Esporas	486	144
		Micelio	1086	120
Sólida	70% H, SS*	Esporas	40	168
	70% H, CS*	Esporas	100	96
	75% H, SS*	Esporas	1050	144
	75% H, CS*	Esporas	1200	168
	75% H, CS*	Micelio	1800	144

<sup>a</sup>U. (Cantidad de enzima que libera un μmol de *p*-nitrofenol por mL de enzima por minuto). H: Humedad, \*SS: Sin Sacarosa, \*CS: Con Sacarosa.

Cuando se inoculó micelio no solo aumentó la actividad quitinolítica, sino también se disminuyó el tiempo de producción en los dos tipos de quitina. La mayor actividad

quitinolítica se obtuvo inoculando micelio y utilizando quitina cruda como fuente de carbono, pH 6. (Tabla 1).

En FMS se establecieron las siguientes condiciones de FML, pH 6, quitina cruda como fuente de carbono. Al variar la humedad de 70 a 75% se mejoró la producción alrededor de 10 veces, disminuyendo el tiempo de germinación. Agregando 1% de sacarosa al medio, no se afectó la producción de la enzima, sin embargo los tiempos de germinación disminuyeron. Utilizando micelio como inóculo aumentó considerablemente la actividad quitinolítica disminuyéndose el tiempo de producción de la enzima (Tabla 1).

Por microscopía electrónica y el crecimiento de *V. lecanii* se observó degradación de la quitina (Figura 1).

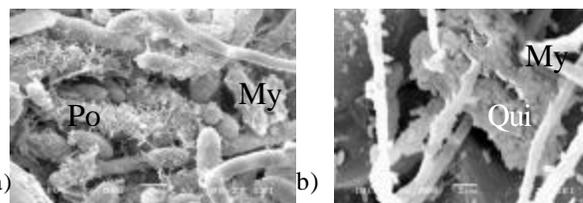


Figura 1. Microscopía electrónica en a)FML, b)FMS. Qui: Quitina, My: Micelio, Po: Polímero

**Conclusiones.** El pH, la fuente de carbono, tipo de inóculo, porcentaje de humedad y tipo de fermentación tienen un efecto sobre la producción de quitinasas. Las mejores condiciones son: pH de 6, inoculó micelio, utilizando como fuente de carbono quitina cruda en FMS.

**Agradecimientos.** Este trabajo fue financiado por CONACyT 400200-5-J33566-E.

## Bibliografía.

- 1.- Fenice M., Selbmann L., Di Giambattista R., Petruccioli ., Federici F. (1996) Production of extracellular chitinolytic Activities by a strain of the Antarctic entomogenous fungus *Verticillium cfr. lecanii*. *Chitin Enzymology*, Muzzarelli R, Ed. Atec Edizioni, Italia, pag 285-292.
- 2.-Matsumoto Y., Revah S., Saucedo G., y Shirai K., (2001) Chitinases production in solid state fermentation (SSF) and submerged fermentation (SF) by *Verticillium lecanii* with silage shrimp as substrate. *Advances in Chitin Science*. En prensa.
3. Saucedo-Castañeda G., M.R. Trejo-Hernández, Lonsane B.K. Navarro J.M., 1994, "On-line Automated Monitoring and Control Systems for CO<sub>2</sub> and O<sub>2</sub> in Aerobic and Anaerobic Solid-State Fermentations", *Process Biochem* Vol. 29 pp.13-22.