

EFECTO DE LA FUENTE DE NITROGENO EN LA PRODUCCIÓN DE INVERTASA POR *Saccharomyces cerevisiae*.

L. Patricia Rodríguez Pascual, Vicente Rivera Martínez, R. Berenice Ávalos Fernández y Edú O. Madrigal
Departamento de Biología. Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología del IPN. Av. Acueducto s/n, Col. Barrio La Laguna-Ticomán, México, D.F. Fax 57 29 6000 ext 56305, e-mail: leopat24@hotmail.com

Palabras clave: *invertasa*, *Saccharomyces cerevisiae*, *medios de cultivo*

Introducción: La invertasa de *Saccharomyces cerevisiae* (β -D-fructofuranósido fructohidrolasa EC 3.2.1.26) es una enzima usada en la industria dulcera, siendo de importación toda la que se emplea en México, por lo que sería interesante estudiar las condiciones de cultivo para su producción. La producción de productos biotecnológicos es altamente dependiente de las cepas usadas y el medio de cultivo empleado (1). Se conoce desde hace tiempo la influencia de la fuente de carbono empleada en la producción de invertasa (2) pero poco se conoce de la influencia de la fuente de nitrógeno. En este trabajo se presenta la influencia de tres fuentes de nitrógeno en la producción de invertasa por tres cepas de *Saccharomyces cerevisiae*

Metodología: Se cultivaron dos cepas comerciales: B y L (La Florida y Safmex) y una de la colección de UPIBI (cepa 133):C de *S. cerevisiae* en matraces con 1 L de medio conteniendo sacarosa 3%, K_2HPO_4 0.5%, $MgSO_4$ 0.1%, extracto de levadura 0.5% y sulfato de amonio ó peptona ó agua de cocimiento de maíz (CSL) 1% como fuentes de nitrógeno, a 28°C, 150 rpm y se tomaron muestras cada hora para determinar biomasa húmeda (g/l), actividad de invertasa (UI) y concentración de proteína, durante 12 horas. La determinación de invertasa se realizó en extracto crudo por el método de Goldstein y Lampen (3).

Resultados y discusión: Para las cepas B y L, las velocidades específicas de crecimiento (μ) con las tres fuentes de nitrógeno fueron semejantes aunque con un mejor desempeño con el agua de cocimiento de maíz (CSL). Para la cepa C, la μ mas alta fue con $(NH_4)_2SO_4$ (Tabla 1).

Tabla 1. Velocidad específica de crecimiento y producción de invertasa con las tres fuentes de nitrógeno.

| | Cepas | $(NH_4)_2SO_4$ | Peptona | CSL |
|----------------------|-------|----------------|---------|-------|
| μ (hr^{-1}) | C | 0.336 | 0.28 | 0.294 |
| | B | 0.383 | 0.353 | 0.398 |
| | L | 0.477 | 0.374 | 0.485 |
| Actividad específica | C | 13.7 | 11.9 | 14 |
| | B | 2.7 | 3.3 | 6.09 |
| UI/mg prot. | L | 4.7 | 4.12 | 11.8 |

Al medir la producción de invertasa en el tiempo, (Fig.1) se observa que la cepa B produjo la mayor cantidad de enzima a las 5 horas con CSL, la cepa L a las 8 horas también con CSL y la cepa C a las 10 horas también en CSL. En cuanto a la actividad específica se debe hacer notar que las cepas B y L tuvieron baja producción de la enzima con $(NH_4)_2SO_4$ y peptona (Tabla 1), a pesar de que permitieron una velocidad

de crecimiento semejante. La cepa C tuvo las velocidades de crecimiento mas bajas y en particular con CSL ($0.294 hr^{-1}$) pero la cantidad de enzima producida fue mayor con CSL y $(NH_4)_2SO_4$ (Tabla 1), aunque el tiempo de mayor producción

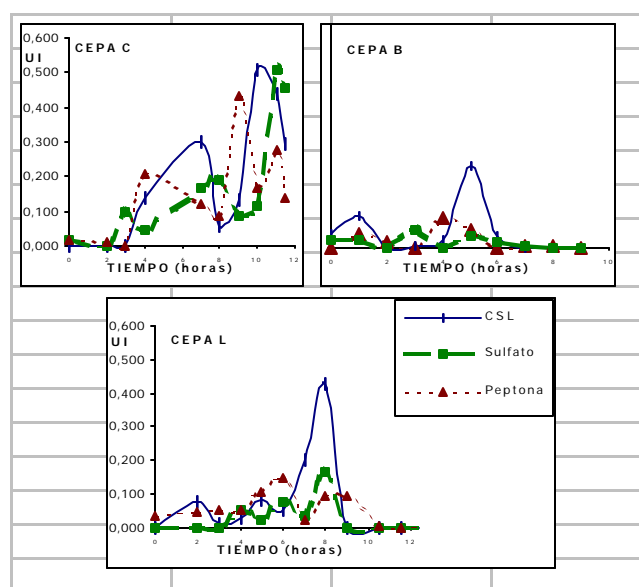


Fig.1 Producción de invertasa en función del tiempo y la fuente de nitrógeno en tres cepas de *S. cerevisiae*

Conclusiones. El CSL favorece la producción de la enzima invertasa en las tres cepas probadas, sobre las otras fuentes de nitrógeno, aunque no necesariamente favorece velocidad de crecimiento. La cepa mas productora (C) produjo niveles semejantes de enzima con CSL y $(NH_4)_2SO_4$.

Agradecimiento. Este trabajo contó con el apoyo No.980028 de la CGPI del IPN.

Bibliografía.

- Hensing, M., Bangma, K., Raamsdonk, L., Hulster, E., van Dijken, J. y Pronk, J. (1995) Effects of cultivation conditions on the production of heterologous α -galactosidase by *Kluyveromyces lactis*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 43:58-64
- Gascon, S. y Lampen, J. (1968). Purification of the internal invertase in yeast. *J. Biol. Chem.* 243:1567-1572.
- Goldstein, A. y Lampen, J. (1975). β -D-fructofuranoside fructohidrolase from yeast. in *Methods in enzymology* Eds. Sidney, P., Colowick, x. y Kaplan. Academic Press. USA. 42:505-511.