

PRODUCCION DE QUITIN DESACETILASAS DE *Colletotrichum gloeosporioides* y *Fusarium solani* EN CULTIVO LÍQUIDO Y SÓLIDO

F. MUÑOZ-PAREDES, N. PACHECO y K. SHIRAI

Universidad Autónoma Metropolitana, Dpto. de Biotecnología Laboratorio de Biopolímeros. Av. San Rafael Atlixco No.186. Col. Vicentina, México, D.F. C.P. 09340. Tel. (5)804 4921. smk@xanum.uam.mx.

El quitosano, biopolímero natural con numerosas aplicaciones se obtiene industrialmente por desacetilación química de la quitina. Las altas concentraciones de álcalis utilizados en la producción del quitosano consumen grandes cantidades de agua y energía, además de generar problemas ambientales. Las quitin desacetilasas (CDA's) catalizan la hidrólisis de los enlaces N-acetamida de la quitina siendo una alternativa al método químico [1]. El objetivo de este trabajo fue evaluar la producción de CDA's de *Colletotrichum gloeosporioides* y *Fusarium solani* en cultivo líquido (FML) y cultivo sólido (FMS).

Cinéticas de FML fueron realizadas en matraces conteniendo 25ml de medio [1], Inoculados con 1×10^6 esporas/ml e incubados a 28°C por 120h a 120 rpm. Cinética en FMS fueron realizadas en columnas utilizando cubos de espuma de poliuretano (PUF) de 0.125 cm^3 como soporte, relación 4.5 ml de medio por 0.3 g de PUF, inóculo de 1.8×10^8 esporas/g de PUF e incubadas a 28°C por 168h con flujo moderado de aire húmedo estéril. Determinación de biomasa por diferencia en peso seco, proteína por el método de Bradford y actividad desacetilasa utilizando etilenglicol quitina como sustrato (EGC) [2], fueron realizados en los extractos enzimáticos obtenidos cada 24h. Los resultados de biomasa indicaron que se alcanzó el estado estacionario a las 24h en la FMS para ambos hongos, mientras que en la FML fue a las 72h, siendo 6 veces mayor para *F. solani* (Figura 1).

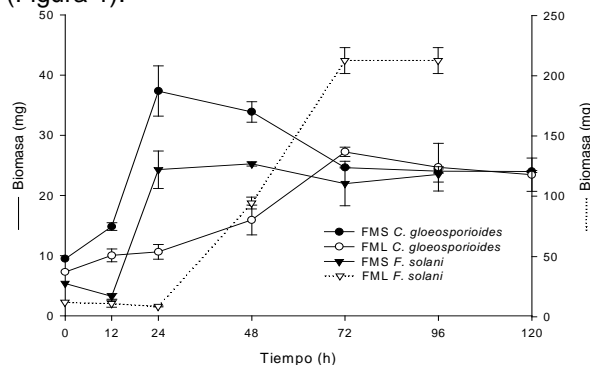


Fig. 1 Cinética de producción de biomasa de *C. gloeosporioides* y *F. solani* en cultivos líquido y sólido.

En cuanto a la proteína, se observaron los máximos valores en FMS a las 48h, 90µg/ml y 38 µg/ml en *F. solani* y *C. gloeosporioides*, respectivamente. FML mostró valores menores a 15 µg/ml para ambos hongos alcanzados a las 24h y manteniéndose constante hasta el final del experimento (figura 2).

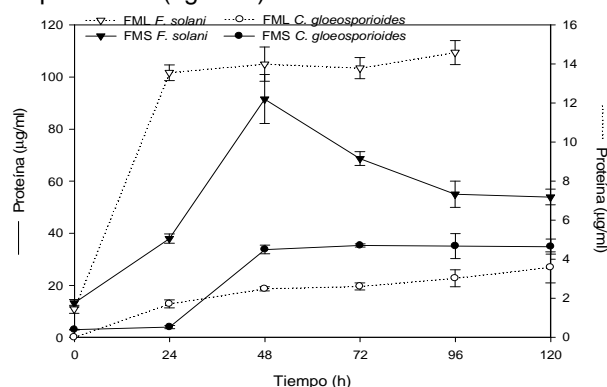


Fig. 2 Cinética de producción de proteína de *C. gloeosporioides* y *F. solani* cultivo líquido y sólido.

La actividad desacetilasa para *C. gloeosporioides* fue 10 veces mayor en FMS en comparación a FML. Los valores máximos alcanzados fueron (0.13 UA/ml) en FMS a las 48h y (0.018 UA/ml) en FML a las 72h. *F. solani* no presentó actividad desacetilasa en FML, mientras que en FMS la máxima actividad se obtuvo a las 24h (0.075 UA/ml) menor a la obtenida con *C. gloeosporioides* (figura 3).

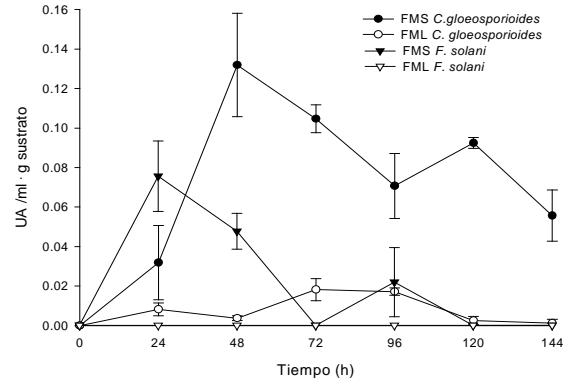


Fig. 3 Cinética de actividad (volumétrica) quitin desacetilasa de *C. gloeosporioides* y *F. solani* en cultivos sólido y líquido

FMS demostró ser una buena estrategia para producción de CDA's ya que permite la concentración de estas enzimas, además de utilizar bajas cantidades de medio.

AGRADECIMIENTOS: Los autores agradecen a al programa de apoyo a investigadores nacionales para el fortalecimiento de tutorías del CONACYT, así como el financiamiento otorgado Proyecto No. 105628.

REFERENCIAS

- [1] Tsigos I., Martinou and Bouriotis V. (1995) *The Journal of Biological Chemistry* 44(3): 26286-26291
- [2] Kauss H. and Bausch B. (1988) In: *Methods in Enzymology*, 161: 518-523, Woods.