

INMOVILIZACIÓN DE *Lecanicillium lecanii* PARA LA PRODUCCIÓN DE β -N- ACETILHEXOSAMINIDASA EN CULTIVO SUMERGIDO

ULISES CARRASCO Y KEIKO SHIRAI

Universidad Autónoma Metropolitana,
Departamento de Biotecnología, Laboratorio de
Biopolímeros, México, D.F. C.P. 09340. Tel.
(55)5804 4921. E-mail: smk@xanum.uam.mx

Las quitinasas presentan una amplio espectro de aplicaciones biotecnológicas, como en el biocontrol y en la preparación de quitoooligosacáridos bioactivos¹. El objetivo fue evaluar el efecto de la agitación y pH en la producción de β -N-acetilhexosaminidasa (Nhasa) de *Lecanicillium lecanii* inmovilizado en espuma de poliuretano (PUF).

La inmovilización fue realizada con una relación de 0.5 g de PUF de 0.5cm³ por 100ml de medio de cultivo, se inoculó con esporas utilizando medio Czapeck modificado con 10 g/L de quitina coloidal. Después de 168 h la biomasa inmovilizada en PUF (biopartículas) fue separada y utilizada para producir quitinasas en un bioreactor, se probaron tres niveles de pH (4.0, 6.0, 8.0) y agitación (75, 150 y 300rpm). Nhasa fue determinada², así como micrografías electrónicas de barrido (SEM) después de la inmovilización y del cultivo sumergido en el bioreactor. Las condiciones de pH y agitación fueron optimizadas mediante el uso de la metodología de superficie de respuesta.

La Figura 1 muestra la biopartículas obtenidas después de siete días de inmovilización, donde se puede observar la biomasa atrapada en la matriz del soporte, con lo que se corrobora la inmovilización del hongo.

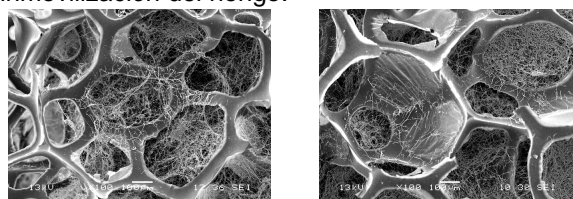


Fig. 1. SEM de biopartículas de *L. lecanii* obtenidas de la inmovilización en PUF.

Posteriormente se construyo una superficie de respuesta a las 120 h de cultivo en el bioreactor como lo muestra la Figura 2, en esta se puede observar el efecto del pH y agitación en la producción de Nhasa. Los valores óptimos de pH y agitación para la producción de Nhasa se presentan en la Tabla 1.

En la Figura 3 se observan las biopartículas al final de los cultivos a pH 6, encontrado como óptimo para la producción de Nhasa. El daño producido al hongo y al soporte es menor a velocidades de agitación de 75 a 150rpm, mientras que a 300rpm el daño fue considerable.

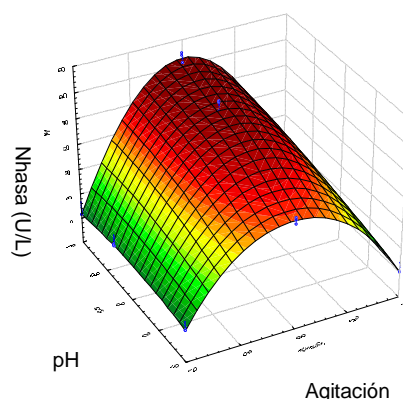


Fig. 2. Producción de Nhasa en función de pH y agitación utilizando biopartículas de *L. lecanii*.

Tabla 1. Valores óptimos del cultivo sumergido

Tiempo (h)	pH	Agitación (rpm)	Predicción Nhasa (U/L)
120	6	102	47.28

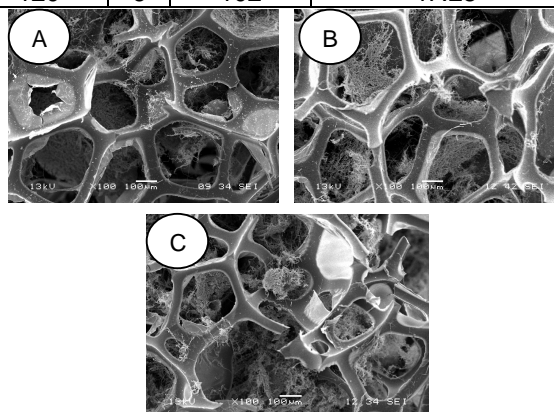


Fig. 3. SEM de las biopartículas de *L. lecanii* después de 120 h de cultivo a pH 6.0. A) 75rpm, B) 150rpm, C) 300rpm.

Las ventajas que presentaron las biopartículas de *L. lecanii* fue su fácil separación del medio de cultivo, disminuyendo la viscosidad con una alta concentración celular en pequeños volúmenes. AGRADECIMIENTOS. Los autores de este estudio agradecen a CONACyT No. 105628 por el financiamiento otorgado.

REFERENCIAS. 1. Matsumoto Y, Saucedo-Castañeda G, Revah S, Shirai K. 2004. Process Biochemistry. 39: 665-671. 2. Tronsmo A, Harman G. E. 1993. Analytical Biochemistry. 208: 74-79.