

OBTENCIÓN DE LA ENZIMA LIGNINOPEROXIDASA POR FERMENTACIÓN EN ESTADO SÓLIDO DEL *PHANEROCHAETE CHRYSOSPORIUM* SOBRE CAPACHO Y TUSA DE MAÍZ

SOLID STATE FERMENTATION WITH *PHANEROCHAETE CHRYSOSPORIUM*
ON CORNHUSK AND CORNCOB TO PRODUCE LIGNINPEROXIDASE

Carolina ARBOLEDA E.¹, Freimar SEGURA S.¹, Carla C. CASTRILLÓN O.², Newar
Andrés GIRALDO A.², Amanda I. MEJÍA G.^{1,2*}

RESUMEN

Con el fin de optimizar las condiciones para obtener la enzima ligninoperoxidasa -LiP-, se evalúa por medio de la fermentación en fase sólida (FES), la utilización de capacho sólo y de la mezcla capacho y tusa de maíz, como soporte y como sustrato para el crecimiento del *Phanerochaete chrysosporium*. Se estudian tres sistemas de inoculación del microorganismo y se determina en ellos el cambio del % de humedad (bajo las mismas condiciones de humedad relativa) y la actividad de la LiP durante el tiempo de fermentación. Los resultados muestran que el *Phanerochaete chrysosporium* encuentra en éstos sustratos (capacho y tusa de maíz) una fuente de carbono y nitrógeno que requiere para su metabolismo, ya que éstos no fueron suministrados de ninguna otra manera. De los sistemas estudiados, con el que se obtuvo mayor actividad de la LiP en el menor tiempo, es en el que se añaden las esporas en un medio líquido basal con una humedad inicial del 70%, indicando que el metabolismo primario del hongo cesa rápidamente en éstas condiciones. Este sistema favorece por lo tanto el metabolismo secundario y una mayor producción de la enzima LiP.

Palabras clave: Fermentación en estado sólido, *Phanerochaete chrysosporium*, capacho y tusa de maíz, ligninoperoxidasa.

SUMMARY

To improve the conditions to obtain the lignin peroxidase enzyme- LiP-, the use of cornhusk as well as mixtures of cornhusk and corncob as supports and substrates for the growth of the *Phanerochaete chrysosporium* is evaluated by solid state fermentation (SsF). Three inoculation microbial systems are studied, for which it is determined the change of humidity % (under the same conditions of relative humidity) and the lignin peroxidase enzyme activity - LiP-, during the fermentation time. The results show that the *Phanerochaete chrysosporium* fungus finds in these substrates (cornhusk and corncob) a carbon and nitrogen source required by its metabolism, since these are not provided by any other way. It is observed that the better LiP activity is obtained when the substrate is prepared by adding the spores into a basal liquid medium with initial humidity of 70 %, indicating that the fungus primary metabolism finishes quickly under these conditions, and a secondary metabolism and a larger LiP production are favored.

Key Words: Solid state fermentation, *Phanerochaete chrysosporium*, cornhusk, corncob, lignin peroxidase.

1 Grupo de Investigación Ciencia de Materiales

2 Grupo de Biotecnología. Facultad de Química Farmacéutica. Departamento de Farmacia. Universidad de Antioquia. A.A 1226. Medellín-Colombia

* Autora a quien se debe dirigir la correspondencia: amejia@quimbaya.udea.edu.co

INTRODUCCIÓN

Actualmente las industrias agrícolas producen enormes cantidades de desechos, tales como el capacho y la tusa de maíz, entre muchos otros, los cuales no reciben el tratamiento adecuado y en el peor de los casos son arrojados a los ríos y quebradas trayendo consigo grandes perjuicios para los sistemas ecológicos. Los desechos agroindustriales poseen poca biodegradabilidad debido a su alto contenido de material ligninocelulósico (1,2,3) pero bajo condiciones adecuadas pueden ser un excelente soporte y/o sustrato para la FES (4).

El *Phanerochaete chrysosporium* es un basidiomiceto que causa podredumbre blanca a la madera. Cuando se cultiva bajo condiciones específicas, el micelio produce la secreción de enzimas extracelulares. En 1983 se descubrió la asociación de éstas enzimas con la degradación de la lignina (5). Este basidiomiceto posee un complejo mecanismo de degradación de la materia orgánica debido a una serie de enzimas ligninolíticas como la lignina peroxidasa -LiP-, la manganeso peroxidasa -MnP- y la polifenoloxidasa -lacasa-, que están en la capacidad de oxidar una amplia gama de compuestos orgánicos tóxicos y recalcitrantes a metabolitos no tóxicos y/o CO₂ (6).

Muchos investigadores buscan sistemas que catalizen o aceleren la degradación de la lignina y los residuos que la contienen (7) para utilizarlos en la producción de compuestos de interés como las enzimas (8,9). La mayoría de las enzimas son producidas todavía en fermentaciones líquidas sumergidas (FLS) (7). Varios factores inciden en su producción, tales como el pH, la agitación, la temperatura, la humedad (10,11,12), la cantidad, la forma de inóculo y de crecimiento del micelio (5), así como la concentración de trazas minerales (13) y determinados metabolitos específicos como el alcohol veratrílico (14). Sin embargo, el control del metabolismo secundario y las rutas de regulación que se conocen para éste microorganismo,

son en su mayoría en sistemas de fermentación líquida o sumergidos (15).

La FES tiene gran importancia actualmente en la producción de enzimas, mostrando ser un método más efectivo que la FLS, ya que cuando la producción a gran escala se incrementa asimismo lo hacen los costos y la demanda energética en las FLS. La FES ha mostrado que produce un producto más estable, requiere menor energía, en fermentadores más pequeños que facilitan el proceso de medidas de separación de los productos -downstream- (16), además de tener la ventaja de aprovechar como soporte y sustrato gran variedad de residuos agrícolas. La fermentación en estado sólido simula mejor las condiciones ambientales y nutricionales que el hongo podría tener en un terreno donde se depositen los desechos agroindustriales (16).

Por lo general la fermentación se realiza utilizando como soporte los residuos agrícolas y se les agrega una solución de sales u otros compuestos como sustratos, de modo que los nutrientes estarían disueltos en la solución acuosa absorbida sobre el soporte sólido.

En éste trabajo, se evalúa por medio de la fermentación en fase sólida (FES), la utilización de capacho sólo y de la mezcla capacho y tusa de maíz como soporte y como sustrato para el crecimiento y producción de metabolitos secundarios del *Phanerochaete chrysosporium*, con el fin de ir acumulando el conocimiento práctico que permita encontrar las mejores condiciones para obtener una alta producción de la enzima ligninoperoxidasa -LiP-, en el menor tiempo posible.

Se estudia el efecto de la forma de inocular el microorganismo por medio de tres sistemas. En el sistema 1, el hongo crece primero en trigo y luego es inoculado a los sustratos; en el sistema 2 las esporas son inoculadas por vía aérea y en el sistema 3 las esporas son inoculadas en un medio basal. Se determina el cambio del % de humedad de los sistemas (mantenidos bajo las mismas condiciones de humedad relativa) y se de-

termina la capacidad para utilizar este sistema ligninolítico para crecer y producir metabolitos de interés, como la enzima ligninoperoxidasa. durante el tiempo de fermentación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Medio de Inóculo: granos de trigo (Fibravida®).

Sustrato: capacho y tusa de maíz, recolectados de la vereda El Cerro, ubicada en el Carmen de Viboral- oriente antioqueño a 1.800 m.s.n.m; posee un clima frío y su temperatura oscila entre 18-20 °C.

Tratamiento del sustrato: El capacho y la tusa del maíz se cortaron en trozos de aproximadamente 1 cm². Se secan a 70° C durante 24 h y hasta peso constante. Posteriormente se muelen. Antes de usarlos en la fermentación se esterilizan a 120 °C por 15 minutos.

Cepa: *Phanerochaete chrysosporium* BKM-F-1767 (ATCC 24725) se mantiene y se replica en el medio YMPG descrito por Jiménez *et al* (10).

Precultivo del Hongo en trigo.

- 8 frascos de vidrio (de 500 ml de capacidad), conteniendo cada uno 50 g de trigo (con un porcentaje de humedad inicial del 40%), se esterilizan a 120°C por 15 min.
- 8 cajas de petri que contienen el hongo recientemente replicado (máximo tres semanas), se dividen en cuadros de 1 cm² y cada uno se inocula en uno de los frascos descrito anteriormente.
- Se incuban en una incubadora Indulab, Ref 2030, a 37 +/- 2 °C por 8 días.

Montaje del sistema de FES.

En una cabina de flujo laminar, y bajo condiciones asépticas, se introducen 250 g del sustrato en bolsas plásticas de 20 x 20 cm, con

perforaciones para facilitar la aireación y la salida de esporas. En unas bolsas se introduce solo capacho de maíz (CM) en y en otras mezcla de capacho y tusa de maíz proporción 2:1 (CTM).

Sistema de inóculación 1

Se inoculan con el precultivo del hongo en trigo. Se coloca una capa del sustrato de 2 cm. de espesor aproximadamente, luego una capa del precultivo del hongo en trigo, de 2 cm y se termina con otra capa de sustrato del mismo espesor.

Se distribuyen de la siguiente manera:

CM1: 3 bolsas con capacho de maíz, inoculadas con precultivo del hongo en trigo, como se describió previamente.

CTM1: 3 bolsas de mezcla de capacho y tusa de maíz. (2:1), inoculadas con la misma cantidad del precultivo del hongo en trigo.

Sistema de inóculación 2

CM2: 3 bolsas perforadas, con capacho de maíz. En estas bolsas, las esporas del *Phanerochaete chrysosporium* serán inoculadas por vía aérea al estar en un ambiente rico en esporas del microorganismo que está creciendo en las bolsas vecinas y que por tener perforaciones saldrán al aire.

CTM2: 3 bolsas de mezcla de capacho y tusa de maíz. Inoculadas por vía aérea como las CM2.

Las bolsas se almacenan en un cuarto aséptico y seco, cerrado, para mantener la humedad relativa constante, así como la temperatura. Se dejan durante 9 días.

Experimento control

Se realizó un experimento control bajo condiciones asépticas en la cabina de flujo laminar, pero en un momento diferente al de la inoculación con las esporas, para asegurar que éstas no estén presentes. Se introducen 250 g del sustrato en bolsas plásticas de 20 x 20 cm, con perforaciones: tres bolsas de capacho y tres de la mezcla,. Las bolsas se almacenan en un cuarto asép-

tico y seco, cerrado, totalmente alejado de las bolsas inoculadas con el precultivo del hongo en trigo, para asegurar que las esporas no las colonicen. Se mantienen a la misma humedad relativa constante, así como la temperatura. Se dejan durante 9 días.

Pruebas para evaluar éstos dos sistemas

A partir del séptimo día, y bajo condiciones asépticas, se toman muestras de 8 g. para determinar el pH, el % de humedad y la actividad de la enzima LiP.

% humedad: 3 g se secan por 24 horas a 105° C hasta peso constante.

pH: A otros 5 g se le adicionan 5 ml de agua estéril. Se mezclan en vórtex por 2 min. Se filtran x 0,45 μm Al filtrado se le determina el pH. Se centrifuga a 4.000 rpm por 15 min. Se determina la actividad de la LiP, como se describe mas adelante.

Sistema de inóculación 3

Las esporas son suspendidas previamente en una solución de medio basal y adicionadas directamente sobre el sustrato a una concentración conocida.

Para este experimento se emplea mezcla de capacho y tusa de maíz 1:1 seco.

Se estudia el efecto de 3 humedades iniciales (HI) sobre producción de la enzima LiP, con el tiempo de fermentación.

Montaje del sistema de FES con el sistema de inóculación 3

En todos los ensayos se pesan 5 g de tusa y 5 g de capacho en erlenmeyers de 500 ml, se tapan con torunda de algodón y gasa y luego con papel aluminio y se autoclavan a 120°C por 15 minutos.

Por grupos de a 3 erlenmeyer de los anteriores, se les adiciona diferentes volúmenes de

medio basal para que queden con humedades iniciales diferentes: 70%, 80% y 90% respectivamente. El medio basal es una solución estéril de buffer tartrato de sodio en agua destilada, de pH de 4.5. Luego se inocula cada erlenmeyer con 5.4×10^6 esporas del hongo, por gramo de sustrato (10), en cabina de flujo laminar.

Para estudiar la influencia de la HI sobre producción de la LiP, se forman 6 grupos (cada grupo con tres erlenmeyers con tres HI diferentes) que se dejan incubando así: el primero 6 días, el segundo grupo 9 días, el tercero 12 días, el cuarto grupo 14 días, el quinto 16 días y el sexto 20 días. Para el análisis de las muestras, se toman los contenidos completos de cada erlenmeyer, se filtran por membranas de 0,45 μm Estos experimentos se dejan durante mas tiempo porque no se toman muestras intermedias y porque contienen mayor humedad por la adición de medio basal, que la humedad de las muestras de los sistemas 1 y 2.

Este experimento se realiza por duplicado.

Actividad de la LiP: A una alícuota de las muestras filtradas se les determina actividad enzimática de la ligninoperoxidasa (LiP), modificando el método descrito por Jiménez *et al* (10). Se mezclan entre 200 y 500 μL del fluido extracelular en una cubeta de cuarzo de 900 μL , se adicionan entre 300 y 600 μL de buffer de tartrato de sodio 0.150 M de pH 3.0 necesarios para completar 800 μL , dependiendo de la cantidad usada de fluido; se adicionan 50 μL de alcohol veratrílico 10 mM y se inicia la reacción con la adición de 50 μL de peróxido de hidrógeno (25 μL en 25 mL recientemente preparado), monitoreando inmediatamente el cambio en la absorbancia a $\lambda=310$ nm. La cantidad de LiP requerida para oxidar 1 mmol de alcohol veratrílico por minuto se define como una unidad. El coeficiente de absortividad molar es $\epsilon=9300 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. También se podría monitorizar la actividad de la LiP con el método descrito por Arora *et al* (17).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Crecimiento del hongo

Con los sistemas de inoculación 1 y 2, pasados tres días del experimento, se observó crecimiento del *Phanerochaete chrysosporium*. En las muestras que no fueron inoculadas directamente con el hongo sino por vía aérea, se comprobó que éstas al estar cerca de las que sí fueron inoculadas (sistema de inoculación 1), fueron colonizadas por las esporas presentes en las bolsas cercanas que salieron por las perforaciones de las bolsas. Se observó un buen crecimiento del hongo en ambos sustratos (capacho y mezcla de capacho y tusa de maíz) durante los primeros 7 días. El buen crecimiento es aquel en que el micelio coloniza al sustrato, creciendo en forma blanca algodonosa característica (18). En los controles no se observó ningún crecimiento microbiano durante los 9 días del experimento.

Características Físicoquímicas

El pH no presentó variaciones significativas y se mantuvo entre 5 y 6.5 apropiado para el desarrollo del hongo (10), con ambos sustratos y sistemas de inoculación

Cambios en el % H_2O : En experimentos previos se había observado que la actividad acuosa -Aw- (ó % de H_2O en un ambiente de Humedad relativa constante) se mantenía durante 7 días y solo a partir de ese día empezaba a disminuir. Por esa razón en éste experimento solo se empezaron a tomar muestras a partir del séptimo día, evitando así la contaminación y disminución de peso por la toma de muestras entre el primer y séptimo día. En las muestras inoculadas con el sistema 1, tanto con capacho de maíz, como con mezcla de capacho y tusa denominadas respectivamente CM1 y CTM1 (ver tabla 1), presentaron mayor disminución en el porcentaje de humedad en comparación con las muestras inoculadas con el sistema 2, CM2 y CTM2. Esto se debe a que las muestras CM2 y CTM2 no poseen trigo, el cuál tiene menos %

de humedad (40%) que el capacho y tusa (83% en promedio).

Tabla 1. Porcentaje de humedad (promedio de las muestras)

Día	CM1	CM2	CTM1	CTM2
1	83.8	83.8	82.8	82.8
7	82.5	82.4	80.5	81.5
8	80.1	80.3	74.9	82.0
9	73.4	79.4	60.3	81.5

CM=capacho de maíz; CMT=capacho y tusa de maíz; 1 = sistema de inoculación precultivo en trigo; 2= sistema de inoculación por esporas via aérea

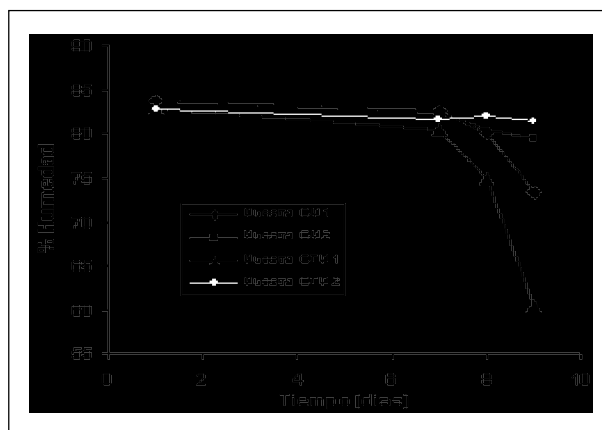


Figura 1. Cambio del % de humedad con el tiempo de fermentación obtenida en sistemas de FES con: CM=capacho de maíz; CMT=capacho y tusa de maíz; 1=inoculación de esporas en precultivo en trigo 1; 2=inoculación con esporas via aérea.

Las muestras inoculadas con el sistema 2 (esporas por vía aérea), presentaron menos pérdida de humedad con el tiempo, debido a que tenían menos sustancias solubles en el agua lo que favorece que la Aw se mantenga por más tiempo. El trigo posee más sólidos solubles que el capacho y la tusa. En las muestras CTM2, donde una alta Aw se mantuvo constante -el % de humedad solo disminuyó de 82.8 a 81.5 entre el 7 y 9 día- probablemente favoreció el crecimiento de otros hongos tipo *Rhizopus* y *Fusarium*.

Determinación de la LiP

Los resultados de la actividad de la LiP en los sistemas de inoculación 1 y 2 se observan en la figura 2.

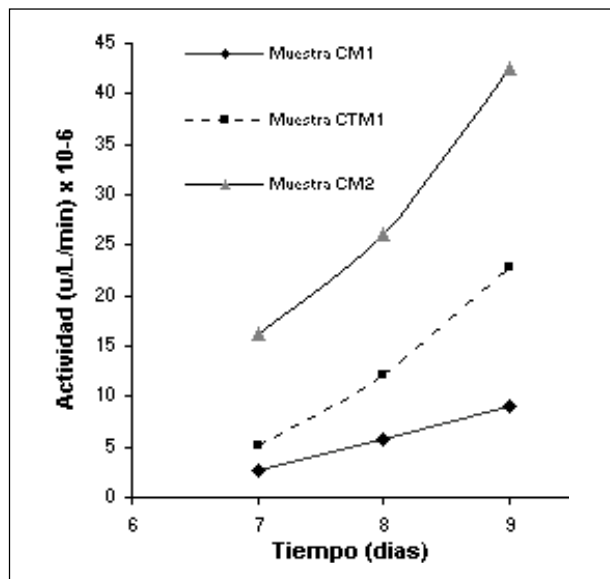


Figura 2. Actividad de la LiP obtenida en sistemas de FES con: CM=capacho de maíz; CMT=capacho y tusa de maíz; 1=inoculación de esporas en precultivo en trigo 1; 2=inoculación con esporas via aérea.

Se observa que la actividad de la LiP aumenta en todas las muestras, con el tiempo de fermentación. Sin embargo, las muestras de la mezcla capacho y tusa inoculadas por esporas via aérea o sistema 2 (CTM2) presentaron una mayor producción de la LiP que las muestras de capacho maíz solo (CM1) y de la mezcla (CTM1) inoculadas con el precultivo en trigo o sistema 1. Las muestras CTM2 no se tuvieron en cuenta por la contaminación que se presentó en ellas. Se observa entonces que a mayor Aw se presentó un mayor metabolismo secundario del hongo o más actividad de la LiP.

Los resultados obtenidos en la actividad de la LiP en el sistema de inoculación 3, o sea con adición de las esporas en un medio basal se observan en la figura 3. La actividad de la LiP varía de acuerdo con la HI, en un rango entre 10 y 110 U/L; la actividad mas baja se obtuvo con un valor inter-

medio de HI= 80%, con 20 U/L el día 7 y máxima actividad de 30 U/L el día 17, con pocas variaciones durante todo el tiempo de incubación. La mayor actividad de la LiP de 110 U/L se obtuvo con la HI mas baja, del 70% al 6 día de incubación, pero luego disminuyó a 20 U/L el día 9, aumentando nuevamente a 40 U/L el día 12 y decayendo a 20 U/L para el día 14. Con una HI del 90%, la actividad de la LiP fue aumentando desde 20 U/L el día 6, a 40 U/L el día 9 y se mantuvo el día 12, disminuyendo a 20 U/L el día 14.

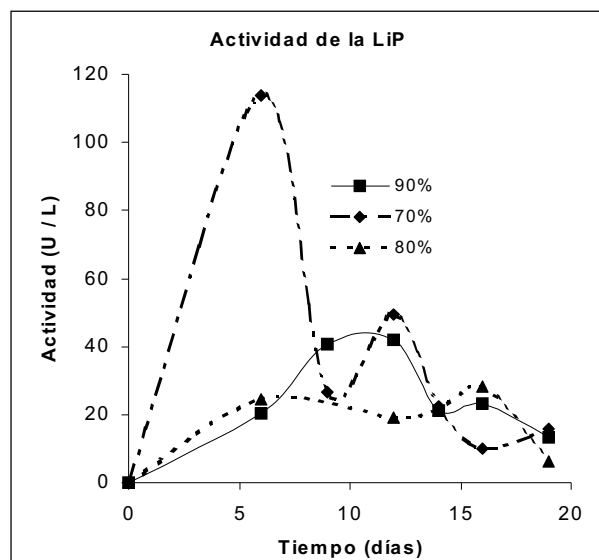


Figura 3. Actividad de la LiP obtenida en sistemas de FES con humedades iniciales diferentes. Los sistemas son inoculados con esporas del *Phanerochaete chrysosporium* (diferentes volúmenes de medio basal añadidos a la misma cantidad de sustrato). Promedio de 2 experimentos.

La HI tuvo un efecto variable sobre la actividad de la LiP. Con una menor HI=70%, se disparó mas rápido el metabolismo secundario del hongo, mientras que con los otras dos HI, y principalmente con la HI del 90%, el metabolismo secundario se mantuvo durante los 20 días, a niveles menores de producción de la LiP.

Esa alta actividad el día 6 para una HI=70% de 110 U/L es un buen resultado comparado con las actividades que se observan tanto en los experimentos de la figura 2, donde la máxima

actividad solo se observa el día 9 con 45 U/L, como la actividad obtenida en los demás experimentos. Si además se comparan con los que hemos obtenido en varios experimentos en fermentación líquida, encontramos que la máxima actividad obtenida está entre el día 8 y 10 con 62 U/Lt (19,20,21,22). En bioreactores de mayor escala, la actividad enzimática que hemos obtenido fue más estable y aumentó gradualmente hasta llegar a un promedio de 139,8 U/Lt a los 20 días y un leve aumento a 159,36 U/Lt a los 30 días, pero con un gran retraso del metabolismo secundario del hongo (23,24).

Esta HI del 70% resultó la más efectiva para mejorar la producción de la LiP, lo cual es muy particular de cada microorganismo y su entorno; esto se puede explicar porque el aumento del área superficial de intercambio entre el micelio y el medio, causada por la inmovilización sobre un material sólido e inerte, bajo ciertas condiciones de humedad, permite mayor contacto entre el hongo y los nutrientes del sustrato, que se liberan a una tasa que favorece su desarrollo mínimamente, que es lo que se desea, de modo que utilice los nutrientes remanentes en la fase de metabolismo secundario y logre una buena producción de éstos. Ejemplos de esta técnica fueron realizados por Leatham *et al* (25), G. Feijoo *et al* (26) y Couto *et al* (27). Si se trata de acelerar el metabolismo del hongo con el fin de aumentar su tasa de crecimiento para que su producción enzimática se inicie en el menor tiempo posible, la humedad es un factor que debe ser establecido porque de antemano no puede saberse a que humedad se favorece el fenómeno descrito.

Sólo se tiene claramente establecido que en las fermentaciones en estado sólido el metabolismo secundario se dispara rápidamente debido a la gran porosidad de materiales como la tusa y el capacho de maíz, en los cuales hay mayor difusión de nutrientes intrapartícula haciéndolos más lentamente disponibles para el hongo durante su metabolismo primario. Esto hace que el sistema permanezca activo más

tiempo, ya que sus nutrientes son consumidos gradualmente. Pero la humedad que favorezca en mayor proporción éste fenómeno, debe ser establecida experimentalmente.

CONCLUSIONES

Los resultados de éste experimento muestran que el hongo *Phanerochaete chrysosporium* encontró en el capacho y la tusa de maíz, las fuentes de carbono y nitrógeno necesarios para su crecimiento, ya que éstos no fueron suministrados con el medio basal y usó como soporte y como sustrato, el material ligninocelulósico. Para su desarrollo produjo metabolitos secundarios como la enzima ligninoperoxidasa que tiene gran importancia en diferentes áreas químico farmacéuticas.

Se puede concluir que es mejor inocular el hongo sin ayuda del trigo, porque sin un medio de precultivo el sistema conserva una actividad acuosa mayor, necesaria para el metabolismo primario y secundario del hongo. Sin embargo, como la humedad es uno de los parámetros que debe ser optimizado, porque causa cambios evidentes en el desarrollo del microorganismo y de sus sistema enzimático, se concluye que la mejor forma de inocular es añadiendo las esporas en un medio líquido que a su vez permite establecer un mejor control de la HI del sistema.

En el sistema de inoculación 3, con la HI del 90%, el metabolismo secundario se mantuvo durante los 20 días, mientras que con una HI=70% se obtuvo más rápido pero no se sostuvo. Se evidencia que a menor HI, el metabolismo primario del hongo cesa rápidamente, favoreciendo por lo tanto el metabolismo secundario y la producción de la enzima LiP, que causa degradación del material ligninocelulósico para desdoblarlo en compuestos que pueda seguir usando para su metabolismo. Se debe optimizar otras condiciones para que el sistema permanezca estable más tiempo, por ejemplo la temperatura, y la agitación, entre otros factores.

Es importante resaltar que éste sistema de fermentación semi-sólida impregnado el soporte con medio líquido presenta la ventaja adicional de poder controlar la humedad y algunos nutrientes

adicionales, que a su vez permite extraer medio extracelular para evaluar la actividad enzimática y analizar el contenido total del sustrato en el tiempo de biodegradación estipulado (15).

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Dr Michel Penninckx y a la Dra Gloria Alicia Jiménez de la Universidad Libre de Bruselas y a la Universidad de Antioquia por la financiación de éste proyecto.

BIBLIOGRAFÍA

1. Aguilar Maria y Valencia Gustavo. Setas Comestibles (pleurotus sp). (2001). Estudio Nacional de estudios profesionales Iztacala, www.guyunusa.com/resumenarticulo.php?numero=2
2. Orth A B, Tien M. (1995). Biotechnology of Lignin Degradation. The Mycota-A Textbook, Ulrich Kuck Editor, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, pp 287-302.
3. Penninckx M. y Jiménez G.A. (1996). "Transformación Microbiológica de la Biomasa, Curso teórico-práctico". Université Libre de Bruxelles and Universidad de Antioquia. Medellín, Abril 22-27.
4. Robinson T, Singh D, Nigam P. (2001). Solid state fermentation: a promising microbial technology for secondary metabolite production. Appl Microbiol Biotechnol 55: 284-289.
5. Tien M, Kirk T K. (1983). Lignin degrading enzyme from the hymenomycete *Phanerochaete chrysosporium* burds. Science Science 221:661-663.
6. Bumpus J A, Aust S D. (1987). Biodegradation of environmental pollutants by the rot fungus *Phanerochaete chrysosporium* involvement of the lignin-degrading system. Bioessays 6:166-170.
7. Pandey A. (2000). Solid state fermentation for the production of industrial enzymes. J Basic Microbiology 40: 187-197.
8. De O Souza M. C, Roberto I C, Milagres A M F. (1999). Solid state fermentation for xylanase by *Thermoascus aurantiacus* using response surface methodology. Appl Microbiol Biotechnol 52: 768-772.
9. Park Y.S., Kang S.W., Lee J.S., Hong S. I. and Kim S.W. (2002). Xylanase production in solid state fermentation by *Aspergillus niger* mutant using statistical experimental designs. Appl Microb. Biotech. 58: 761-766
10. Jiménez G.A, Mejía A.I, López B.L. (1999). Actividad de las enzimas ligninolíticas del *Phanerochaete chrysosporium* y su variación con la adición de Mn^{2+} . Rev. Acad. Colomb. Cienc. 23 (89), 587-594.
11. Paszczynski, A, Huynh V. B., Crawford R. (1986). Comparison of ligninase-1 and peroxidase M-2 from the white-rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. Arch. Biochem. Biophys. 224: 750-765.
12. Cai, D. and Tien, M. (1991). Lignin peroxidase. Enzymes in Biomass Conversión. Chap. 14: 180-197.
13. Brown J.A, Glenn J.K. and Gold M. H. (1990). Manganase regulates the expression of manganese peroxidase by *Phanerochaete chrysosporium*. J. Bacter. 172:3125-3130.
14. Jensen K. A.Jr, Evans M.C., Kirk T.K. and Hammel K.E. (1994). Biosynthetic pathway for veratryl alcohol in lignolytic fungus *Phanerochaete chrysosporium*. Appl. and Environm. Microb. 60: 709-714.
15. Barrios-González J, Mejía A. (1996). Biotechnology annual review-A textbook vol 2. Elsevier Science B-V. M.R El-Gewely Ed: 86-237.
16. Robinson T, Singh D and Nigam P. (2001). Solid State Fermentation: a promising microbial technology for secondary metabolite production. Appl. Microbiol Biotechnol. 55: 28444-289.
17. Arora D. S., Gill P. K. (2001). Comparison of two assay procedures for lignin peroxidase. Enzyme & Microbial Technology. 28 (7-8): 602-605.
18. Meyrath and Bu'Lock. (1977). Biotechnology and fungal differentiation FEMS Symposium N°. 4. Academic Press INC. LTDA. London.167:138- 186.
19. Mejía G Amanda, López Betty and Mulet Antonio. (1999). Biodegradation of poly (vinylalcohol) with enzymatic extracts of *Phanerochaete chrysosporium*. Macromolecula Chem. Phys. Symposia. 148, 131-147.
20. López Betty; Mejía G. Amanda and Sierra Ligia. (1999). Study of the Biodegradability of poly (vinyl alcohol). Polymer Engineering and Science, 39 (8), 1346-1352.
21. Mejía G Amanda, López O Betty and Ligia sierra. (2001). Biodegradation of Polyvinilalcohol - co -ethylene with enzymatic extract of *Phanerochaete chrysosporium*. Materials Research Innovations, 4 (2-3), 148-154.

22. Alzate Jans, Arbeláez Carlos. A., Mejía Aamanda. y López Betty. (2001). Caracterización del polivinilalcohol (PVOH) en medios de disolución complejos. *Vitae*, 8 (1-2), 47-54.
23. Segura S Freimar, Mendoza Nancy, Mejía G Amanda. (2002). Ensayo de diferentes tipos de biorreactores para escalar la producción de la enzima ligninoperoxidasa en cultivos sumergidos de *Phanerochaete chrysosporium*. *Vitae*, 9(2), 17-26.
24. Mejía G. Amanda Inés; López O. Betty Lucy and Hess Michael. (2003). Bioconversion of poly (vinylalcohol) - PVOH- to vanillin in a *Phanerochaete chrysosporium* culture medium. *Research Material Innovations*, 7 (3),. In press.
25. Leatham Gary F., Himmel Michael E. (1995). Enzymes in biomass conversion. University of winsconsin at Madison. United States. Chapter 18: 225 -235.
26. Feijoo G., Dosoretz C. and Lema J. M. (1994). Production of lignin peroxidase from *Phanerochaete chrysosporium* in a packed bed bioreactors with recycling, *Biotech. Techniques* 8 (5), 363-368.
27. Couto S. R., Ratto M., Domínguez A. (2001). Sanroman A. Strategies for improving ligninolytic enzyme activities in semi-solid-state bioreactors. *Process Biochemistry*. 36 (10): 995-999.

Fecha de Recibo Febrero 27 de 2003

Fecha de aceptación Abril 4 de 2003

DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS

34 años de labores académicas

Programas Adscritos

Sede central

Ingeniería de Alimentos
Ciencia y Tecnología

Sede bajo Cauca (Caucasia)

Tecnología de Alimentos

Sede Oriente (Rionegro)

Facultad de Química farmacéutica - Universidad de Antioquia
Telefono: 210 54 65 - Correo electrónico: cta@muisca.udea.edu.co

SERVICIOS DE EXTENSIÓN DE LA FACULTAD DE QUÍMICA
FARMACÉUTICA Y ESCUELA DE NUTRICIÓN Y DIETÉTICA

LABORATORIO DE ANÁLISIS SENSORIAL

Presta servicios a: * Industrias de alimentos
* Trabajos de investigación

Cuenta con: Jueces capacitados bajo Normas Técnicas
Colombianas NTC 4129 y 4130

Informes: Universidad de Antioquia
Fax 2 30 50 07 Medellín -Colombia
Correo electrónico: labsensorial@pjaos.udea.edu.co

Centro de Información y Documentación de Medicamentos, Alimentos y
Productos Naturales de la Universidad de Antioquia

CIDUA

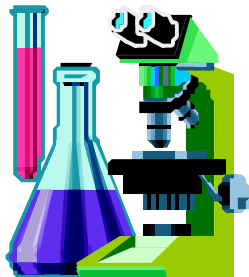


- Si usted tiene alguna duda sobre aspectos relacionados con los medicamentos, alimentos y los productos naturales, consulte al teléfono: 2 10 54 55 o solicite personalmente su consulta en la Universidad de Antioquia Facultad de Química Farmacéutica bloque 02- 123, de lunes a viernes en el horario de 8 a.m a 6 p.m.
- El CIDUA cuenta con textos y revistas especializadas en el área de los medicamentos, alimentos y productos naturales, con bases de datos sobre medicamentos MICROMEDEX, IDIS y acceso a base de datos sobre productos naturales NAPRALERT.
- Entre la población beneficiada se encuentran estudiantes de pre y posgrado del área de la salud, instituciones de salud, empresas fabricantes y distribuidoras de medicamentos, alimentos y productos naturales, empresas prestadoras de servicios y la comunidad en general.

Teléfono: 2 10 54 55 Telefax: 2 10 54 56
Dirección electrónica: cidua@muiscas.udea.edu.co

**Servicios de extensión de la Facultad de
Química Farmacéutica
LABORATORIO ESPECIALIZADO DE ANÁLISIS
-LEA-**

Presta el servicio de verificación de la calidad a materias primas,
medicamentos, alimentos, cosméticos y similares.



Mayores Informes

Teléfono: 2 10 54 58 Telefax: 2 10 54 56
Dirección electrónica: lea@muiscas.udea.edu.co