

Uso de un Diseño Compuesto Central para conocer la temperatura y pH óptimos de un extracto enzimático rico en endopeptinasas

Félix. A. Martínez Macías¹, Mayola García Rivero¹, Ma. Aurora Martínez Trujillo¹ y Guillermo Aguilar Osorio²

¹Laboratorio de Catálisis Enzimática, Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec, Av. Tecnológico s/n esq. Av. Carlos Hank González, Ecatepec, Estado de México.

²Departamento de Alimentos y Biotecnología. Conj. E., Facultad de Química, UNAM. Cd. Universitaria, CP 04510, México, D.F. Tel: 56 22 53 06, e-mail: gao@servidor.unam.mx

Palabras clave: endopeptinasas, Temperatura, pH

Introducción. Las endopeptinasas son enzimas que hidrolizan de manera aleatoria los enlaces $\alpha,1-4$ de las unidades no esterificadas en la cadena principal de la pectina. Su acción provoca una considerable reducción de la viscosidad de una solución de dicho polisacárido. Son producidas por microorganismos como hongos y bacterias¹. Tienen importancia en la industria alimentaria y la textil, así como en el tratamiento de aguas residuales pecticas y la fabricación de papel². Es importante conocer la temperatura y pH óptimos de acción para este tipo de enzimas, ya que los procesos industriales en los que se aplican funcionan en distintas condiciones, lo que puede afectar la actividad de la enzima. Este trabajo tiene como objetivo conocer, mediante un diseño compuesto central, la temperatura y pH óptimos de un filtrado enzimático rico en endopeptinasas, producido por *A. flavipes* FP 500 en cultivo sumergido con cáscara de limón como fuente de carbono.

Metodología. El filtrado enzimático rico en actividad de endopeptinasas de *A. flavipes* FP-500 se obtuvo en matraces con medio basal³ y cáscara de limón al 1% (p/v) como fuente de carbono. El cultivo se mantuvo durante 72 horas a una temperatura de 37°C y 250 rpm. Para conocer la temperatura y pH óptimos de la actividad endopeptinolítica del filtrado, se utilizó un Diseño Compuesto Central (DCC)⁴. Los factores considerados para este diseño fueron la temperatura (X_1), en un intervalo de $-\alpha = 26$ y $\alpha = 54^\circ\text{C}$; y el pH (X_2), desde $-\alpha = 2.2$ hasta $\alpha = 7.8$. Con este diseño se obtuvo un modelo cuadrático, mediante el cual fue posible trazar una superficie de respuesta, y describir la actividad endopeptinolítica en los intervalos de operación. La actividad de endopeptinasas se cuantificó mediante la técnica analítica descrita previamente³. Una unidad de actividad endopeptinolítica se definió como la cantidad de enzima que disminuye en 50% la viscosidad de la pectina en solución en las condiciones probadas.

Resultados. Los resultados del DCC, dieron origen al modelo matemático descrito en la ecuación 1,

$$\text{Endo} = 9.17 + 5.9X_1 - 3.3X_2 - 3.25X_1X_2 + 2.23X_1^2 - 3.06X_2^2 \quad (1)$$

Estos datos mostraron que la actividad endopeptinolítica es mayor a medida que aumenta la temperatura y disminuye el pH, como lo muestra claramente la gráfica de contorno generada (Figura 1). El factor temperatura

tiene mayor efecto sobre la respuesta, aunque la interacción entre los factores no es significativa.

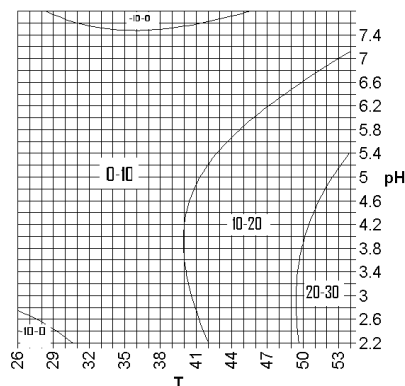


Figura 1. Gráfica de contorno generada por el modelo ante las diferentes condiciones de operación.

Los valores más altos de actividad se encuentran en el extremo inferior derecho de la superficie explorada. Para verificar el punto de inflexión e identificar la temperatura óptima del filtrado, se realizó un experimento posterior fijando un pH de 3 y variando las temperaturas por encima del intervalo explorado en el DCC (Tabla 2).

Tabla 2. Ampliación de la región de respuesta óptima para determinar la temperatura y pH óptimos

Temperatura (°C)	pH	Endopeptinasas (U/mL)
60	3	20.45
70	3	43.56
80	3	42.63

Conclusiones. La temperatura óptima para el filtrado enzimático rico en actividad de endopeptinasas fue de 70 °C en un intervalo de pH entre 2.2 y 5.

Bibliografía.

- Singh R, Saxena S y Gupta R. 2004. Microbial pectinolytic enzymes: A review. *Process Biochemistry* 2931-2944.
- Kshyap. D, Vohra. P, Chopra. S y Tewari. R. 2001 Applications of pectinases in the commercial sector: a review. *Bioresource Technology*. 215-227.
- Martínez, M, Aranda, J.S y Aguilar, G. 2008. Kinetic study on inducibility of polygalacturonases from *Aspergillus flavipes* FP500 *Electronic Journal of Biotechnology*, October 15, 11(4).
- Plasota, J. y Deming, S.1992. Central Composite Experimental Designs. *Journal of Chemical Education*. 560-562.