

SEPARACION DE ENZIMAS CELULASAS EN SISTEMAS DE DOS FASES ACUOSAS.

B. Guerra Alvarez¹, J.C.Dustet Mendoza¹, J.L.Martínez Hernández² 1. Facultad de Ingeniería Química. CUJAE. Calle 114 # 11901 e/119 y 127, Marianao, C. de La Habana, CUBA. 2. Facultad de Ciencias Químicas, U.A. de Coahuila. Email: beatrizq@quimica.cujae.edu.cu, martinh@usquim.uadec.mx

Palabras clave: enzimas celulasas, sistemas de dos fases acuosas, Aspergillus niger.

Introducción. Las celulasas constituyen uno de los biocatalizadores más estudiados, debido a sus múltiples aplicaciones, entre las que se encuentran el mejoramiento de alimentos para animales, y la conversión de celulosa en etanol. Los sistemas acuosos de dos fases son considerados adecuados para lograr la purificación parcial de proteínas, debido al alto rendimiento que se obtiene y a la biocompatibilidad de los elementos que lo forman.

Objetivo del trabajo fue encontrar el mejor sistema acuoso para separar las enzimas celulasas de tres especies de hongos.

Metodología. Se emplearon las cepas de hongos 137 MCX1 *Trichoderma viride*, 149 MCX1 *Penicillium implicatum*, y J1 de *Aspergillus niger*. Las enzimas se obtuvieron en sistemas de fermentación en estado sólido (1). En los sistemas para los que no se tenía información de las curvas binodales, las mismas se construyeron, por el método descrito en (2), estos fueron: $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ -Agua-PEG de masas molares 600, 1500 y 6000 respectivamente. La actividad enzimática celulasa se reportó como carboximetilcelulasa (CMCasa). El rendimiento se calculó como la actividad en una fase entre la actividad inicial donde la Actividad inicial=volumen de crudo utilizado* actividad del crudo (U/mL), y la Actividad en una fase = volumen de la fase*actividad detectada en la fase (U/mL). La materia prima fue pretratada previo al proceso de hidrólisis enzimática con el objetivo de debilitar la unión estructural entre las distintas fracciones de la misma y permitir así el ataque de las enzimas celulasas (3).

Resultados y discusión. Al sustituir el agua por el crudo enzimático los volúmenes obtenidos para cada fase en el estado de equilibrio fueron menores para los sistemas (K_2HPO_4/KH_2PO_4) -PEG 1500-agua, (K_2HPO_4/KH_2PO_4) -PEG 6000-agua y $(NH_4)_2SO_4$ -PEG 1500-agua, esto se debió a los componentes remanentes del medio de fermentación presentes en el crudo. Todas las curvas binodales presentaron un mismo comportamiento como el mostrado en la figura 1.

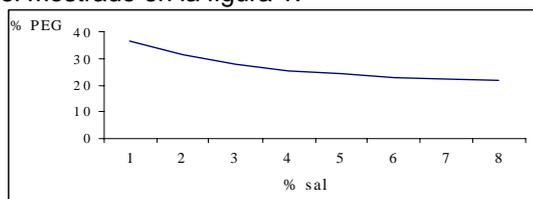


Fig. 1 Curva binodal del sistema $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ - PEG 600 - Agua a $T = 20^\circ C$.

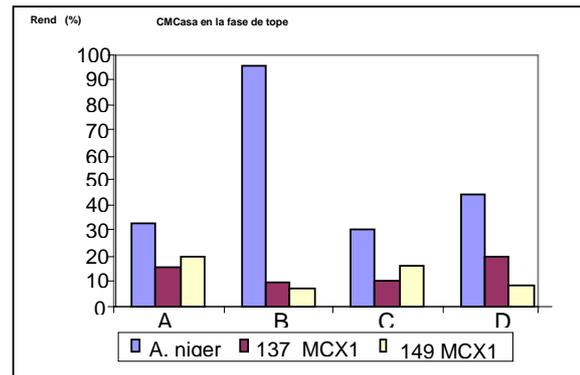


Fig. 2 Rendimiento de la actividad CMCasa en la fase de tope en diferentes puntos de equilibrio: sistema (K_2HPO_4/KH_2PO_4) -PEG 1500 - crudo a $T = 20^\circ C$.

En la figura 2 se observan los resultados del rendimiento en el sistema (K_2HPO_4/KH_2PO_4) -PEG 1500-crudo. El sistema se estudió manteniendo la misma combinación de sales de potasio y variando la masa molar del PEG (600,1500 y 6000), observándose que los mejores resultados fueron logrados en el sistema con PEG 1500 y en la fase de tope. Los puntos A,B,C y D representan diferentes composiciones de sales y PEG 1500 en el sistema, demostrándose la influencia de esta variable en los resultados del rendimiento.

Conclusiones. El mayor rendimiento resultó para la enzima de la cepa *A. niger* J1 en el sistema (K_2HPO_4/KH_2PO_4) -PEG 1500-crudo enzimático. La enzima de *P. implicatum* (149 MCX1) alcanzó el mayor rendimiento en el sistema $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ -PEG 600-crudo. Para estos sistemas constituidos con la sal $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ no se contaba con datos de las curvas de equilibrio. Los valores de rendimiento para la cepa *T. viride* (137 MCX1), en los diferentes sistemas analizados, fueron similares y no excedieron el 60 %.

Bibliografía.

- Dustet Mendoza J.C., Izquierdo Kulich E. 2004 Aplicación de balances de masa y energía al proceso de fermentación en estado sólido de bagazo de caña de azúcar con *Aspergillus niger*. *Biotecnología Aplicada* v 21, 85-91,
- Albertsson, P. A. 1986. 30-56. En: Partition of Cell particles and macromolecules. Third Edition. New York. Wiley.
- Tanaka, M.; Matsuno, R. (1985). Recent development and problems. *Enzyme Microb. Tech.*, Vol. 7, May, 107-205.