



CARACTERIZACIÓN DEL PROCESO DE INMOVILIZACIÓN DE CELULAS DE ASPERGILLUS NIGER SP EN ESPUMA DE POLIURETANO PARA LA PRODUCCIÓN DE XILANASAS.

Diego Vera González¹, Mayola García Rivero¹, Isabel Membrillo Venegas¹, Guillermo Aguilar Osorio², Aurora Martínez Trujillo¹,

¹Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec, Laboratorio de Catálisis Enzimática, Ecatepec Estado de México.

²Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad Universitaria.

*e-mail: amartinez@tese.edu.mx

Palabras clave: Inmovilización, Aspergillus niger, Xilanasas.

Introducción. Las xilanasas participan en la hidrólisis de la hemicelulosa¹; son producidas por una amplia variedad de microorganismos, entre los que destacan algunas especies de hongos y bacterias. Sin embargo, los hongos filamentosos son organismos modelo para su producción, debido a su capacidad para producir y excretar altas actividades enzimáticas². Por otra parte, el desarrollo de bioprocesos para la producción de hidrolasas con células inmovilizadas ha mostrado tener una serie de ventajas sobre las células libres. En un sistema inmovilizado existe un incremento en la productividad del sistema. Debido a lo anterior, la caracterización del proceso de inmovilización a partir de diferentes condiciones de operación empleadas, permite optimizar dicho proceso con la menor variabilidad posible, aumentando la producción enzimática³. Finalmente, el objetivo principal del presente trabajo, es desarrollar un diseño factorial 2^k para caracterizar el proceso de inmovilización de células de *Aspergillus niger* sp en espuma de poliuretano para la producción de xilanasas.

Metodología. Para la caracterización del proceso de inmovilización se desarrolló un diseño factorial 2^k, cuyos factores y diseño experimental se resumen en la Tabla 1. En todos los experimentos se utilizó xilana de abedul como fuente de carbono, en un medio mineral con la siguiente composición, en g/L: KH₂PO₄, 2; K₂HPO₄, 2 y (NH₄)₂SO₄, 5 g/L, a pH de 5.0. Estos se incubaron durante 72 horas a 37°C, para luego recuperar el extracto enzimático mediante filtración. Se evaluó la biomasa inmovilizada (como la relación entre la biomasa adherida a los cubos de espuma de poliuretano con respecto a la biomasa total generada) y la actividad xilanólítica³ (que se expresó en U/L). Los resultados obtenidos se analizaron con el programa Statistical Analysis System (SAS).

Resultados. Los resultados obtenidos se resumen en la Tabla 1. El análisis de varianza del diseño factorial 2³ con puntos centrales mostró que los tres factores del diseño, así como la interacción entre estos mismos, tienen un efecto significativo (p ≤ 0.05) sobre la biomasa inmovilizada; sin embargo, únicamente el factor X₂ y la interacción X₁X₂ tienen un efecto positivo sobre dicha variable. El modelo que describe el efecto de las variables independientes sobre la respuesta es:

$$\%BI = 75.76 - 19.58X_1 + 20.86X_2 - 0.45X_3 + 17.25X_1X_2 - 1.05X_1X_3 - 0.33X_2X_3$$

En lo que respecta a la producción máxima de xilanasas, el ANOVA mostró que solo los factores X₁, X₃ y la interacción X₁X₃ son significativos (p ≤ 0.05); teniendo un efecto positivo sobre la producción máxima de xilanasas. El polinomio generado para este sistema es:

$$P_{max} = 37195 + 4289.89X_1 + 1643.15X_2 + 4624.39X_3 + 1379.11X_1X_2 + 6695.94X_1X_3 - 1478.87X_2X_3$$

Tabla 1. Factores y variables respuesta.

No. Exp	X ₁ , F.C (g/L)	X ₂ , (# Esponjas/50 ml)	X ₃ , Agitación r.p.m	% BI	Pmax (U/L)
1	1	1	50	91	30915
2	9	1	50	19	27981
3	1	5	50	98	39037
4	9	5	50	96	32347
5	1	1	250	92	34366
6	9	1	250	17	48943
7	1	5	250	99	27300
8	9	5	250	92	56666
9	5	3	150	92	44037
10	5	3	150	92	40399
11	5	3	150	88	41291
12	5	3	150	91	40422

Los ANOVAS mostraron que para conocer las condiciones óptimas de operación para la inmovilización de células y una adecuada producción de xilanasas sería necesario ampliar el diseño estadístico, es decir, obtener los datos del diseño compuesto central y con ello la capacidad de desarrollar el análisis canónico que permita ubicar el punto de respuesta óptimo.

Conclusiones.

Es posible inmovilizar células de *A. niger* sp en espuma de poliuretano con un elevado rendimiento en la producción de xilanasas. Una pequeña serie de experimentos adicionales permitirá conocer las mejores condiciones de operación para desarrollar el procedimiento de inmovilización. Las células inmovilizadas así obtenidas pueden tener diversas aplicaciones en sistemas de cultivo.

Agradecimiento. DVG agradece a la SEP por la Beca de Titulación.

Bibliografía.

1. Ponce N. T. y Pérez A. O. (2002). *Avance y perspectiva*. Vol. (XXI): 273-277.
2. Raimbault M. (1998). *Electronic Journal of Biotechnology*. Vol. (1): 2-15.
3. Martínez Trujillo A. y García Rivero M. (2012). *Rev. Mex. Ing. Química*. Vol. (11).
4. Membrillo Venegas I., Fuentes Hernández J., García Rivero M. y Martínez Trujillo A. (2013). *International Journal of Food Science & Technology*. Vol. (48): 1798-1807.