



## DETERMINACIÓN DE LOS FACTORES MÁS RELEVANTES QUE AFECTAN LA ACTIVIDAD DE FITASA UTILIZANDO UN DISEÑO DE PLACKETT-BURMAN

Claudia I. Franco, Alejandro Fernández, Daniel Solís, Ulises Gaona\*, Edgar Salgado\*\*✉

\*Lab. de Control de Calidad. Alltech, Av. Paseo de la Yuca No.2, CD Serdan, Puebla, CP.75520, ☎2454528000 ext. 104

\*\*Lab. de Investigación en Bioingeniería. Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología, Av. Acueducto s/n, La Laguna Ticomán, Del. Gustavo A. Madero, México D.F., CP. 07340, ☎ 57296000 ext. 56338, e-mail: esalgado@ipn.mx.

*Palabras clave: Fitasa, Aspergillus niger, Plackett Burman*

**Introducción.** El fósforo, macronutriente necesario en la dieta de los animales domésticos (caballos, vacas, etc), se encuentra almacenado en las semillas y plantas como fitato [1], sin embargo no es asimilado por los animales y es necesario incluirlo en la dieta incrementando los costos [2]. La adición de fitasa, enzima producida entre otros por *A. niger* mediante una fermentación en estado sólido (FES), permite liberar el fósforo para que sea asimilado. Este trabajo tuvo como objetivo probar diferentes aditivos (31 factores; 6 fuentes de carbono, 6 de nitrógeno, 4 metales, 7 ácidos, 2 quelantes, 3 surfactantes, 2 minerales y un mineral), con la intención de incrementar la actividad de la fitasa producida en FES por *A. niger* utilizando un diseño de Plackett-Burman [3].

**Metodología.** *A. niger* se hizo crecer en cajas con PDA a temperatura controlada por 5 días. De las cajas se tomo una colonia y se hizo crecer en tubos inclinados con PDA a temperatura controlada por 15 días; estos tubos sirvieron de inóculo de los matraces semilla (matraces de 500ml con 250ml de medio) los cuales contenían un medio estéril a base de sales, almidón de maíz y salvado de trigo; este ya inoculado se incubó por 3 días con temperatura y agitación controladas. Los matraces semilla fueron usados para inocular 32 matraces de 500 ml con 10 g de salvado de trigo previamente esterilizados a los que se les adicionó la respectiva combinación [3] de los diferentes aditivos, se incubaron por 5 días a temperatura y humedad controladas. Estos experimentos se hicieron por triplicado. Se midió la actividad enzimática de la enzima fitasa, utilizando el método de molibdato de amonio modificado por Alltech, el cual permite cuantificar la liberación de fosfato inorgánico

**Resultados y discusión.** El diseño utilizado (Plackett-Burman) permitió realizar los estudios de barrido de 31 Factores diferentes (aditivos) con un numero total de 32 experimentos, los experimentos se llevaron a cabo por triplicado para poder corroborar si el factor tenía o no efecto sobre la actividad enzimática de la fitasa. Los resultados obtenidos (Unidades de actividad) fueron procesados para poder obtener un diagrama tipo Pareto; el cual presenta una forma más observable sobre el efecto de cada factor. En la figura 1 están graficadas las medianas de cada factor; el factor 24 no presenta efecto sobre la actividad de la fitasa, los factores 10, 12, 13, 17, 20, 22, 23, 29 tienen efecto

positivo, mientras que los factores restantes tienen un efecto negativo en la actividad de la enzima.

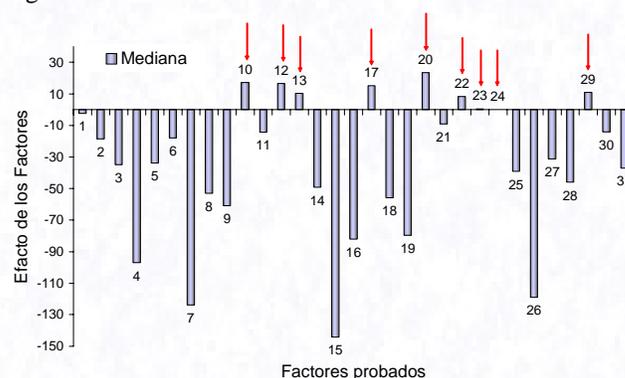


Figura 1. Efectos de los diferentes factores probados con el arreglo del diseño Plackett-Burman

Con los factores descartados (efecto negativo), los de efecto positivo junto con el factor con efecto nulo se usaran para experimentos posteriores de superficie de respuesta para que exista una mayor discriminación.

**Conclusiones.** El diseño de Plackett-Burman permite el análisis de numerosos datos con un número de experimentos razonable en comparación con los diseños factoriales. En particular, para el estudio de los factores que afectan la actividad de la fitasa se logró descartar 22 aditivos de los 31 empleados; quedando una cantidad manejable para un estudio de optimización más fino.

### Agradecimiento.

A el IPN y a Alltech por el apoyo financiero y las facilidades otorgadas.

### Bibliografía.

1. Mansviwala, TN. y Khire, JM. (2000) Production of high activity thermostable phytase from thermotolerant *Aspergillus niger* in solid state fermentation. *J. of Ind. Microbiol. & Biotech.* (24): 237-243
2. Bogar, B., Szakacs, G., Pandey, A., Abdulhameed, S., Linden, J. y Tengerdy, R. (2003) Production of phytase by *Mucor racemosus* in solid State Fermentation. *Biotechnol. Prog.* (19):312-319.
3. Plackett, R.L. y Burman, J. P. (1946) The Design of Optimum Multifactorial Experiments. *Biometrika.* (33):305-325.