

OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE PURIFICACIÓN DE BIKAVERINA EN CROMATOGRAFÍA POR ELUCIÓN

Omar González Ortega^a, Jazmín A. Serrano Yopez^b, Aniceto B. Rueda Rocha^b, María de la Luz X. Negrete Rodríguez^c, Eleazar M. Escamilla Silva^c y Ma. del Carmen Chávez Parga^d

^aDepto. de Ingeniería Química, Universidad de Arizona

^bDepto. de Ingeniería Química y bioquímica, Instituto Tecnológico de Morelia

^cDepto. de Ingeniería Química, Instituto Tecnológico de Celaya

^dFacultad de Ingeniería Química, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

Edificio M CU, Francisco J. Mújica S/N, Col. Felicitas del Río, Morelia Mich., Tel/fax: 014433273584 y 443 3167176. E-mail: carmen_pchavez@yahoo.com

Palabras clave: purificación, bikaverina, cromatografía.

Introducción. Los procesos de bioseparación son parte importante de los procesos biotecnológicos y pueden representar hasta el 60% del costo final del producto, por lo que es necesario optimizar las condiciones de bioseparación en la búsqueda constante de reducción de costos (1). La bikaverina, un metabolito secundario que es producido por el hongo *Giberella fujikuroi*, es un antibiótico altamente específico en contra de *Leishmania brasiliensis* que es un protozoo responsable de la enfermedad cutánea *Leishmaniasis* (2). En la literatura se describen diversos procesos de bioseparación de bikaverina, sin embargo no se dispone de condiciones que optimicen tanto la composición de la fase estacionaria como de la fase móvil que permitan obtener un rendimiento máximo.

El objetivo del presente trabajo es optimizar el proceso de purificación de bikaverina en cromatografía por elución empleando un diseño de experimentos central compuesto (dcc).

Metodología. Las condiciones de operación del proceso fermentativo fueron las reportadas en (3). La purificación se realiza en cromatografía por elución de acuerdo a un diseño dcc, con las condiciones mostrados en el cuadro 1. Como fase estacionaria se utilizó silica gel 60 marca Merck, la cual se mezcla con un porcentaje determinado de ácido oxálico. La fase móvil esta compuesta por cloroformo, metanol y ácido acético.

El procedimiento de purificación empleado es una adaptación del método reportado en la literatura (3,4).

Cuadro 1. Condiciones experimentales para la purificación de bikaverina.

| Variable | Factores | Nivel bajo | Nivel medio | Nivel alto |
|----------|--------------------|------------|-------------|------------|
| A | Ácido oxálico (%) | 0 | 5 | 10 |
| B | Cloroformo (ml) | 50 | 94 | 138 |
| C | Metanol (ml) | 0 | 1 | 2 |
| D | Ácido acético (ml) | 0 | 5 | 10 |

Resultados y discusión. En la etapa de purificación del producto los porcentajes de recuperación en las columnas oscilaron entre el 50 y el 80%, los porcentajes de recuperación más altos se dieron en las columnas en las que la fase móvil estaba compuesta por los tres solventes. También se encontró que el tiempo de recuperación no es una variable significativa. Se realizó el ANDEVA, teniendo como variable más significativa la cantidad de

ácido acético y el modelo de regresión obtenido para el rendimiento es:

$$\text{rend} = 0.68055 + 0.103135A - 0.22921B - 0.0469499C + 0.387087D + 0.00880197A^2 + 0.108667AB + 0.0329512AC - 0.148422AD - 0.219253B^2 - 0.0329512BC + 0.0286361BD + 0.525729C^2 - 0.0710321CD - 0.254094D^2$$

El modelo predice un rendimiento máximo del 84% con las siguientes condiciones para la cromatografía en columna, fase móvil: cloroformo/metanol/ácido acético;75.24:1.57:7.82 v/v/v y como fase estacionaria, silica gel con 6.79% de ácido oxálico. El experimento realizado con estas condiciones arrojó un valor de 83.88% de rendimiento en la purificación de bikaverina. En la Figura 1 se muestra el resultado del proceso de optimización.

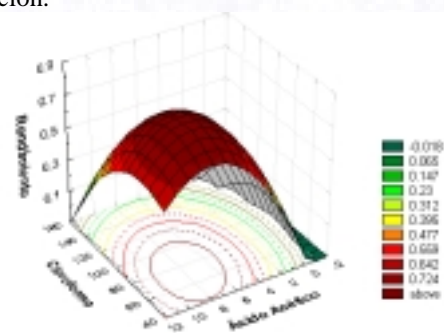


Fig. 1. Superficie de respuesta para el rendimiento de la purificación de bikaverina.

Conclusiones. La metodología empleada del diseño de experimentos dcc permitió establecer las condiciones que optimizan el proceso de bioseparación de bikaverina.

Agradecimiento. Al CONACYT por el apoyo para la retención No. 050098 y la beca para doctorado No. 165730/229117.

Bibliografía.

- (1) Tejeda, A., Montesinos, R. M. y Guzmán R. (1995). *Bioseparaciones*. Sonora, México: Editorial Unison.
- (2) Balan, J., Fуска, J., Kuhr, I. and Kuhrová, V. (1970). Bikaverin, an antibiotic from *Gibberella fujikuroi*, effective against *Leishmania brasiliensis*. *Folia Microbiológica*. 15:479-484.
- (3) Chávez P., Ma. del C. (2005) "Producción de ácido giberélico en un biorreactor airlift". Tesis de Doctorado en Ciencias en Ingeniería Química, Instituto Tecnológico de Celaya, Celaya, Gto.
- (4) Valadon, L. R. G. and Chapman, D. J. (1983) The naphthoquinones (fungal vacuolation factor) of *Verticillium agaricinum*. *Microbiol. Lett.* 24:115-119.