

OPTIMIZACIÓN DE VARIABLES EN FERMENTACIÓN PARA LA SÍNTESIS DE CELULASA Y SU EFECTO EN LA PARED CELULAR VEGETAL.

Zavala Nigoa Janet*, Figueroa-Vizcaíno, R. Martha, Navarrete Bolaños José Luis, Jiménez Islas Hugo, Botello Álvarez Enrique, Rico Martínez Ramiro.

Instituto Tecnológico de Celaya. Depto. Ingeniería Química y Bioquímica.

Av. Tecnológico y A. García Cubas, A.P. 57, C.P. 38010. Celaya Gto.

Tel : (416) 1 75 75, Fax : (461) 1 79 79, e-mail : jlnb@itc.mx.

Palabras clave: diseños experimentales, optimización, celulasas, *Rhizopus nigricans*.

Introducción. Celulasas, complejo enzimático usado para depolimerizar materiales a base de celulosa tienen un amplio campo de aplicación industrial. Estudios recientes se han desarrollado para degradar las paredes celulares de vegetales y facilitar los mecanismos difusivos de la transferencia de masa durante el proceso de lixiviación (Navarrete y col. 2003). Las celulasas son producidas por el cultivo aeróbico de diversas especies de hongos. Las condiciones de cultivo varían de acuerdo con el microorganismo, el sustrato y el tipo de biorreactor que se utilice. En estudios preliminares hemos obtenido soluciones enzimáticas con actividad hidrolítica de los microorganismos saprofitos asociados al cempoalxochitl (Navarrete y col. 2003). Con base a lo anterior, el presente trabajo tiene como objetivo optimizar las variables de operación que maximicen la producción de celulasas en un biorreactor de tanque agitado por *Rhizopus nigricans* y evaluar su efecto sobre la composición y el rendimiento en la extracción de xantofilas de la flor del cempoalxochitl.

Metodología. Para la optimización de variables se utilizaron diseños experimentales secuenciales, construcción de modelos matemáticos y extrapolación, que en su conjunto constituyen la metodología de superficie de respuesta. La actividad enzimática fue evaluada con base a sistema de reacción usando soluciones carboximetil celulosa al 0.525 % (p/v) que presenta una viscosidad de 2400 cp. La actividad se estimó como una función de la reducción de la viscosidad. El efecto de la celulosa sobre la pared celular fue evaluada por fibra ácido detergente (FAD) para celulosa, constituyentes de la pared celular (CPC) y contenido celular por fibra neutro detergente (FND) y La hemicelulosa se estimó como la diferencia entre CPC y FAD.

Resultados y discusión. Experimentos de electroforesis sobre geles de SDS-poliacrilamida con concentraciones en el rango de 3 a 20% determinaron que la celulosa es expresada y secretada por el hongo *Rhizopus nigricans*. El análisis de varianza realizado a los resultados experimentales mostraron la relación que existe entre las variables y la síntesis de celulosa. Con esta información se construyó un modelo polinomial de regresión usando mínimos cuadrados:

$$Y = 86.17 + 0.768^A - 0.605B - 1.732C - 1478AB + 0.745AC + 0.74BC - 1.66A^2 + 3.84B^2 - 0.545C^2$$

El análisis de varianza de este modelo muestra es una buena representación de los resultados experimentales ($\alpha = 0.05$). El modelo se usó para construir las gráficas de superficie de respuesta (figura 1) y definir en un sistema tridimensional el punto estacionario que maximiza la respuesta se obtiene al derivar el modelo para cada variable y dando solución al sistema de ecuaciones resultantes. El resultado indica que las condiciones que maximizan la síntesis de celulosa por fermentación son 50 rpm de agitación, 10 lpm de aire y 27.8 °C. Ensayos de comprobación dieron producciones promedio

de celulosa de 0.025 gE/L con 5000 U de actividad, comparada con un estándar de celulosa comercial.

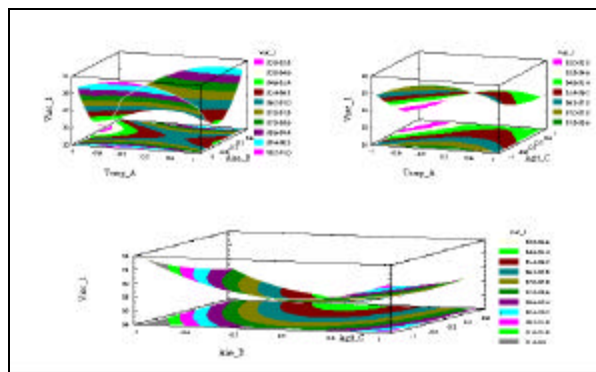


Figura 1. Contornos de superficie de respuesta estimada.

El extracto enzimático obtenido fue adicionado sobre pétalos de flor del cempoalxochitl frescos, los resultados muestran que se pueden obtener harinas con 29.3 g de xantofilas (?) por Kg (peso seco) con 5 horas de tratamiento (figura 2). Valor mayor al obtenido por tratamientos similares usando enzimas comerciales y además de reducir el tiempo de tratamiento. El fenómeno es asociado al cambio en el contenido de celulosa (?) y hemicelulosa (?) de las muestras tratadas y que está relacionado al incremento en la permeabilidad de las paredes celulares que permite aumentar la transferencia de masa. El intercambio de masa entre los componentes hidrosolubles desde la fase sólida hacia la fase líquida origina una disminución en la cantidad total de masa en la fase sólida y un incremento en la concentración de los componentes insolubles en medio acuoso.

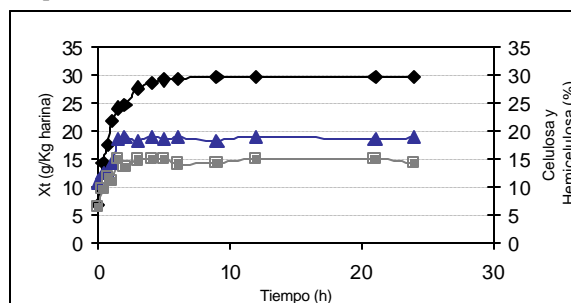


Figura 2. Efecto del tratamiento enzimático sobre la composición (?) y rendimiento de la extracción de xantofilas (?).

Bibliografía.

Navarrete-Bolaños, J.L.; Jimenez-Islas, H.; Botello-Alvarez, E.; Rico-Martinez, R. 2003. Mixed culture optimization for marigold flower ensilage via experimental design and response surface methodology. *J. Agric. Food Chem.* 51, 2206-2211.