



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



DISEÑO EXPERIMENTAL TIPO PLACKETT-BURMAN APLICADO A LA PRODUCCIÓN DE PECTINASAS, XILANASAS Y CELULASAS POR FERMENTACIÓN EN MEDIO SÓLIDO

Ma. Teresa Torres-Mancera¹, Sevastianos Roussos², Gerardo Saucedo-Castañeda¹. ¹Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, Departamento de Biotecnología. Av. San Rafael Atlixco no. 186, CP 09340, México D.F., ²Université Paul Cézanne. Équipe Ecologie Microbienne et Biotechnologies. Marseille, France. te1982re@gmail.com, saucedo@xanum.uam.mx

Palabras clave: Plackett-Burman, FMS, enzimas despolimerizantes.

Introducción. Los diseños experimentales tipo Plackett-Burman son diseños factoriales fraccionados de dos niveles, se utilizan como método de identificación de las variables que tienen influencia en la respuesta deseada (1). El objetivo del trabajo fue utilizar el diseño de Plackett-Burman para determinar los factores que influyen en la producción de pectinasas, xilanasas y celulasas con la finalidad de tener un extracto enzimático capaz de degradar la pared celular de la pulpa de café para la extracción de compuestos con un alto valor agregado.

Metodología. La matriz de Plackett-Burman se construyó con el programa STATISTICA versión 14 (M1-M8). La cepa utilizada fue *Rhizomucor pusillus*. El extracto enzimático se produjo por fermentación en medio sólido usando una mezcla de pulpa de café, residuos de la extracción del aceite de olivo y bagazo de caña en las mismas proporciones, con 60% de humedad e inoculado con 1×10^8 esporas/g sustrato. El crecimiento de *R. pusillus* se midió indirectamente por la producción de CO₂ (2) La actividad pectinasa, xilanasas y celulasas se midió por DNS, usando una concentración de 2 g/L de pectina, xilano y CM-celulosa (40°C, pH 5, 30 min).

Tabla 1. Factores y niveles utilizados en el Plackett-Burman.

Factores	Niveles	
	-	+
x ₁ Sacarosa (g)	1	6
x ₂ Maltosa (g)	1	6
x ₃ Soln oligoelementos (ml)	0.1	1
x ₄ (NH ₄) ₂ SO ₄ (g)	0.5	2
x ₅ (NH ₄) ₂ HPO ₄ (g)	0.5	2
x ₆ Temperatura (°C)	30	40
x ₇ Tamaño partícula (cm)	0.8	2

Resultados. En la Fig. 1 se presenta la producción de CO₂, la línea continua corresponde al modelo ajustado de Gompertz en cada una de las corridas ensayadas M1-M8. El M8 tuvo la mayor producción de CO₂, 21.4 mgCO₂ gMFS⁻¹ y el M6 la mayor μ_{CO_2} , 0.29 h⁻¹. Con respecto a la actividad enzimática (Tabla 2), el M8 presentó las mayores actividades enzimáticas: 35.1, 19.2 y 3.6 U/g MFS para la pectinasa, xilanasas y celulasas. La actividad celulasas obtenida es mayor a la reportada por Criquet, 8×10^{-2} U gMFS⁻¹ (3). Mientras que la actividad pectinasa y xilanasas son menores a lo reportado por Bai *et al*, 16.8×10^2 U gMFS⁻¹ (4) y Maciel *et al*, 1.9×10^2 U gMFS⁻¹ (5), respectivamente.

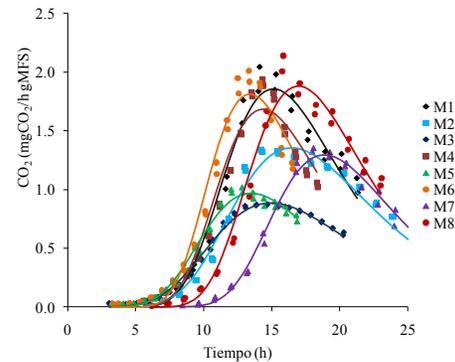


Fig. 1. Producción de CO₂ en las condiciones ensayadas M1-M8.

Tabla 2. Actividades enzimáticas (U gMFS⁻¹).

	Pectinasa	Celulasas	Xilanasas
M1	21.4 ± 0.52	1.6 ± 0.06	17.1 ± 0.03
M2	16.8 ± 0.21	1.4 ± 0.03	15.1 ± 0.05
M3	4.6 ± 0.06	1.2 ± 0.01	9.8 ± 0.10
M4	20.0 ± 0.26	1.6 ± 0.01	15.2 ± 0.08
M5	16.7 ± 0.19	1.2 ± 0.01	15.7 ± 0.24
M6	21.7 ± 0.04	1.8 ± 0.03	15.4 ± 0.06
M7	17.5 ± 0.22	1.5 ± 0.09	14.3 ± 0.02
M8	35.1 ± 0.05	3.6 ± 0.08	19.2 ± 0.06

MFS: Materia fermentada seca

Con un $\alpha=0.01$ se determinó que la sacarosa, (NH₄)₂SO₄, (NH₄)₂HPO₄ y temperatura son las variables que tienen mayor efecto sobre las 3 actividades enzimáticas despolimerizantes. En la siguiente etapa se buscará incrementar las actividades enzimáticas variando estos cuatro factores.

Conclusiones. El diseño Plackett-Burman es una herramienta estadística valiosa que nos permitió determinar con un número reducido de ensayos las variables que afectan las actividades enzimáticas deseadas.

Agradecimiento. CONACyT 204412.

Bibliografía.

- Montgomery D. C. (1991). Diseños Factoriales Fraccionados de Dos Niveles. *Diseño y Análisis de Experimentos*. Palacios M. R. Grupo Editorial Iberoamericana, México pág: 334-335.
- Saucedo-Castañeda G., Trejo-Hernández M. R., Lonsane B. K., Navarro J. M., Roussos S., Dufour D. and Raimbault M. (1994). *Process Biochemistry*. 29: 13-24.
- Criquet S. (2002). *J. Microbiol Methods*. 50: 165-173.
- Bai Z. H., Zhang H. X., Qi H. Y., Peng X. W. and Li B. J. (2004). *Biores Technol*. 95: 49-52.
- Maciel G. M., Vandenbergh L., Haminiuk I., Fendrich R., Bianca B., Brandalize T., Pandey A. and Soccol C. (2008). *Food Technol Biotechnol*. 46(2): 183-189.