

## Aplicación del diseño de mezclas y la metodología de superficie de respuesta para la optimización de cultivos microbianos.

Navarrete-Bolaños, J.L., Rico-Martínez, R., Jimenez-Islas, H., González-Calderón, L.M.

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

Av. Tecnológico s/n, A.P. 57, C.P. 38030. Celaya Gto.

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

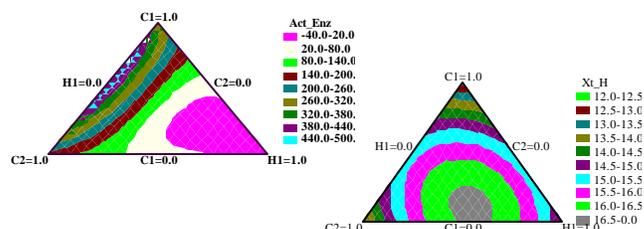
Palabras clave: diseños experimentales, optimización, cultivos microbianos

**Introducción.** Por tradición la flor de cempasúchil es usada en las festividades del día de muertos y ceremonias religiosas. La oleoresina obtenida de su procesamiento se utiliza en la formulación de alimentos balanceados para el área avícola y piscícola con el propósito de mejorar los productos que de ellos se obtienen y que son asociados a la calidad (1). Más aún, se ha demostrado que los componentes principales de la oleoresina (luteína y zeaxantina) presentan capacidad de prevenir cáncer, reparar ligamentos de los sistemas musculares y cutáneos, transporte de enzimas y mejorar la visión (2). Bajo estas consideraciones un gran número de estudios han sido desarrollados y la subsecuente aparición de una gran cantidad de publicaciones científico-técnicas tal como lo muestra el incremento considerable en el número de patentes internacionales en un 500% de 1996 a la fecha. Sin embargo, aun existe la carencia de información de estudios enfocados al pre-tratamiento de la flor de cempasúchil antes de someterse al proceso de extracción (ensilado) donde se registran pérdidas que alcanzan hasta el 30%. Con base a lo anterior, el presente trabajo tiene como objetivo el estudio de la actividad enzimática de los microorganismos naturales que participan en el proceso de ensilado natural de la flor de cempasúchil.

**Metodología.** Flora microbiana nativa de la flor de cempasúchil (*Flavobacterium Iib*, *Acinetobacter anitratus*, *Enterobacter intermedius*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter agglomerans*, *Rhizopus nigricans* y *Geotrichum candidum*) fueron aisladas e identificadas. Las cepas se sembraron en tubos inclinados conteniendo agar nutritivo y agar PDA y propagadas en medio líquido en matraces Erlenmeyer de 250 ml, incubadas en un agitador orbital termostregulado a 28°C y 175 r.p.m. por un tiempo de 120 hrs. Se tomaron muestras para realizar estudios cinéticos de crecimiento y de expresión enzimática de celulasa (1). Los extractos enzimáticos fueron agregados a una mezcla de reacción de carboximetilcelulosa (CMC) a diferentes concentraciones y evaluando la actividad de la enzima con relación al cambio de viscosidad ( $\rho$ ). En los ensayos de ensilado se utilizó flor de cempasúchil estéril colocada en cajas Petri mezcladas con el cultivo según el diseño de experimentos e incubadas durante siete días a las 28°C. Los productos ensilados fueron analizados por el método del AOAC (970.64) para determinar la concentración de xantofilas totales. En ambos estudios se hizo uso de diseños secuenciales de mezclas implicando ensayos con cultivos puros y mezclas que involucraran combinaciones entre ellos.

**Resultados y discusión.** Los estudios de actividad enzimática muestran que solo las bacterias *Flavobacterium Iib* y *Acinetobacter anitratus* y al hongo *Rhizopus nigricans* con actividad enzimática significativa de celulasa. En estos, se observó que le momento de máxima actividad corresponde a tiempos de propagación de 25, 15 y 26 hrs manifestando

una capacidad para reducir la viscosidad de la solución de CMC en 77.3, 88.6 y 93.6% respectivamente. Por otro lado, los resultados de los estudios de ensilado muestran a las bacterias *Flavobacterium Iib*, *Acinetobacter anitratus*, *Enterobacter aerogenes* y al hongo *Rhizopus nigricans* con mayor incidencia en el proceso al incrementar la eficiencia de la extracción. Con esta información de ambos estudios se planteó un diseño de *centroide simplex* para tres y cuatro componentes con fines de optimización. Los resultados de estos ensayos muestran efectos de sinergismo entre las bacterias *Flavobacterium Iib*, *Acinetobacter anitratus* y el hongo *Rhizopus nigricans*, así como efectos de antagonismo entre las bacterias *Acinetobacter anitratus* y *Enterobacter aerogenes*. Más aún, los modelos de 2° orden generados muestran que los valores óptimos para composición del cultivo que mejora el rendimiento del ensilado son: *Flavobacterium Iib*=11.65%, *Acinetobacter anitratus* =40.24% y *Rhizopus nigricans*=48.09%, y para en el caso del análisis de actividad enzimática son: *Flavobacterium Iib*=13.13%, *Acinetobacter anitratus* =19.10% y *Rhizopus nigricans*=67.75% (figura 1).



**Con** Figura 1. Superficies de respuesta y regiones optimas podemos establecer a los diseños de mezclas como una herramienta útil para la evaluación de poblaciones mixtas de microorganismos que han de participar en procesos fermentativos.

### Bibliografía.

1. Delgado-Vargas, F. And Paredes-López, O. 1996. Effects of enzymatic treatments on carotenoid extraction from marigold flowers (*Tagetes erecta*). Journal of Agricultural and Food Chemistry. 45. pp. 1097-1102.
2. Seddon, J.M, Ajani, U.A. and Sperduto, R.D. 1994. The EyeCare Connection. J. Amer. Med. Assoc. 272(18): 1413-1420.