

---

## PRODUCCIÓN DE ÁCIDO GIBERÉLICO UTILIZANDO BIOCATALIZADORES SOPORTADOS EN MATRICES POROSAS

D. Pierotty-Carvajal<sup>1</sup>, A. Otálvaro-Alvarez<sup>2</sup>, N. Algecira-Enciso<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá  
*dapierottyc@unal.edu.co*

<sup>2</sup> Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá, Departamento de Ingeniería Química  
*amotalvaroa@unal.edu.co*

<sup>3</sup> Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá, Departamento de Ingeniería Química  
*naalgecirae@unal.edu.co*

### RESUMEN

La producción de ácido giberélico (AG), un metabolito secundario obtenido por fermentación con el hongo *Gibberella fujikuroi*, y de gran importancia en el sector agrícola en donde es aplicado como fitohormona, puede llevarse a cabo en sistemas de células inmovilizadas por adhesión, o por atrapamiento en soportes porosos de diversa naturaleza. Se estudió la inmovilización de *Gibberella fujikuroi* en sílica gel, carbón activado y vidrio sinterizado. Los biocatalizadores obtenidos se emplearon en fermentaciones sumergidas que se desarrollaron en un tiempo total de 10 días, que incluía la preparación de los inóculos, obteniendo rendimientos de hasta 0.055 mg ácido giberélico/g medio nutritivo. El crecimiento del micelio sobre los soportes inertes se verificó mediante microscopía electrónica de barrido (SEM).

**Palabras clave:** ácido giberélico, biocatalizadores, fermentación, *Gibberella fujikuroi*.

### ABSTRACT

Gibberellic acid (GA), a secondary metabolite obtained by fermentation with the fungus *Gibberella fujikuroi*, has great importance in agricultural it is applied as phytohormone. It is produced in systems were cells are immobilized by adhesion, or by being caught on diverse porous supports. The immobilization of *Gibberella fujikuroi* was studied on: silica gel, activated charcoal and sinterized glass. The biocatalysts obtained were used in submerged fermentations, which were carried out for periods of 10 days, including the preparation of the inoculants. Yields of up to 0.055 mg of gibberellic acid / g of medium were obtained. The growth of the mycelia on inert supports was verified by scanning electronic microscopy (SEM).

**Key words:** fermentation, *Gibberella fujikuroi*, gibberellic acid.

---

### INTRODUCCIÓN

Uno de los campos de la biotecnología que ha logrado una mayor evolución en el último siglo, es la producción de metabolitos secundarios; hoy en día se produce una gran cantidad de estas sustancias, las cuales son de alto valor agregado, y cuya mayoría provienen de hongos. Dentro de éstas cabe mencionar: diversos tipos de enzimas

(celulasas, xilanasas, invertasas, pectinasas), ácidos orgánicos, antibióticos, hormonas, fructooligosacáridos, etc. (Durand, 2003; Pandey, 2003; Viniegra-González *et al.*, 2003; Pangiotou *et al.*, 2003; Chien *et al.*, 2001).

El ácido giberélico (AG) es una fitohormona del grupo de las giberelinas, que se produce industrialmente por fermentación sumergi-

da, empleando el ascomiceto *Gibberella fujukuroi*. Se han usado distintas técnicas de fermentación a nivel de laboratorio, desde los trabajos en fermentaciones sumergidas (Borrow *et al.*, 1964), pasando por las investigaciones con células inmovilizadas (Jones y Pharis, 1987), hasta llegar a los ensayos con sistemas de inmovilización basados en fibras poliméricas y diversos sistemas de fermentación en fase sólida. (Lu, *et al.*, 1995; Gelmi *et al.*, 2000; Gelmi *et al.*, 2002).

Entre las aplicaciones de esta fitohormona se encuentran la contribución que ésta puede realizar sobre los procesos de malteado de la cebada, el estímulo que tiene sobre el crecimiento de algunas aves, su actividad como promotor del desarrollo de los racimos de uva, su labor en los procesos de autofecundación de ciertos frutos, el aumento que genera en las distancias internodales de algunas plantas, su actividad como desencadenante de la floración en otras, su oposición al efecto inhibitorio de la oscuridad en el desarrollo de algunos tejidos vegetales, la reducción en los períodos de latencia de semillas, sus efectos en el crecimiento y metabolismo de algunos microorganismos, su influencia en el crecimiento de algas y los efectos farmacológicos que presenta sobre algunos animales, entre otras. (Otálvaro, 2005).

En la fermentación sumergida, al trabajar con un sustrato líquido, uno de los principales inconvenientes es el incremento de la viscosidad del medio de fermentación, debido a la generación de biomasa, lo cual dificulta los fenómenos de transferencia. En este caso la agitación juega un papel fundamental para la solución de este problema; sin embargo, la baja resistencia mecánica de las estructuras miceliarias restringe el uso de velocidades de agitación elevadas.

Es por esto, que si se logra inmovilizar las células en soportes inertes, se introduce una

resistencia difusiva importante, tal y como sucede en la catálisis heterogénea (Karel *et al.*, 1985), y se obtienen como ventajas entre otras: la posibilidad de manejar velocidades de agitación mayores, lo cual se traduce en mayores regímenes de flujo y mejor transferencia de masa y de calor; se garantiza que las células crezcan dentro del soporte o adheridas al mismo, con lo cual se evita que se incremente dramáticamente la viscosidad del medio y se adquiere la posibilidad de reutilizar el biocatalizador en otras fermentaciones.

En la producción de metabolitos secundarios, es necesario promover el crecimiento celular hasta un punto en el cual el metabolismo de la célula cambie por algún motivo, bien sea inducido o no. El principal inconveniente en los sistemas de células inmovilizadas en matrices porosas es la capacidad del biocatalizador para intercambiar gases con el medio, especialmente oxígeno, ya que el crecimiento es un proceso preferencialmente aerobio. Es por esta razón que en el momento de la inmovilización es importante tener en cuenta la formación de una "biopelícula" en la superficie exterior del soporte (Karel *et al.*, 1985), que es una película del microorganismo que se sitúa alrededor de un área que se considera como la distancia crítica de la biopelícula y se estima que en la mayoría de los casos puede ser de 50 a 100 mm (Atkinson y Fowler, 1974).

Trabajos anteriores realizados empleando *G. Fujikuroi* soportada sobre diferentes matrices han reportado diferentes datos de productividad de AG, es así como para el uso de amberlita como soporte para la preparación de un catalizador y el posterior uso de éste dentro de una columna de vidrio empacada se tiene un dato de producción de AG de 0.730 mg/g de soporte inerte (Gelmi *et al.*, 2000), mientras que para el uso de fibras poliméricas como soporte la producción de AG es de 210 mg/ml de medio (Lu Z. - X. *et*

al., 1995) y finalmente, cuando se emplearon cultivos de células inmovilizadas en biorreactores fluidizados se alcanzó un valor máximo para la producción de AG correspondiente a 3.90 mg/ml.

En el presente trabajo, se obtuvieron biocatalizadores, utilizando como soportes matrices porosas inertes, es decir, que no pueden ser degradadas por el microorganismo, y que no reaccionan con el medio nutritivo con el cual son impregnadas, para promover el crecimiento del hongo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Soportes porosos preformados: carbón activado granulado, sílica gel, piedra pómez granulada, estireno-divinilbenceno entrecruzado, resina de intercambio iónico LEVATIT K 2431 de BAYER y placas de vidrio de tamaño de poro controlado.

Soportes porosos: ácido poligalacturónico (pectina) y alcohol polivinílico (PVA) de elevado peso molecular (50000-100000).

Microorganismo: cepa de *Gibberella fujikuroi* ATCC 12616, subcultivada periódicamente y mantenida en agar papa - dextrosa (PDA) a 4°C.

Preparación del inóculo y propagación del hongo: para la preparación de inóculos se tomaron 10 mL de una suspensión del micelio y se mezclaron con 5 g del soporte y 50 mL de medio nutritivo compuesto por: glucosa anhidra (80 g/L),  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (3 g/L),  $\text{MgSO}_4$  (1.5 g/L),  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (3 g/L) y 10 mL/L de una solución de sales que contiene cada 100 mL:  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0.007 g),  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (0.007 g),  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0.007 g),  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0.007 g), HCL concentrado (16.9 mL),  $\text{H}_2\text{O}$  (83.1 mL). Esta mezcla se incubó en erlenmeyers de 250 mL a 28°C y 100 rpm durante 48 horas, tiempo después del cual se lavó el biocatalizador ob-

tenido con solución salina estéril y se llevó a fermentadores de 250 mL con 150 mL de medio nutritivo fresco. (Lu *et al.*, 1995; Gelmi *et al.*, 2000; Escamilla *et al.*, 2000).

Preparación de las placas de vidrio de tamaño de poro controlado: se prepararon diferentes mezclas de vidrio convencional molido y NaCl en moldes metálicos de 30 mm de diámetro, utilizando como agente desmoldante  $\text{CaCO}_3$ . La mezcla se hizo de tal manera que las partículas de NaCl fuesen siempre de menor tamaño que las de vidrio. Después de esto se elevó la temperatura de las mezclas hasta 750°C durante un espacio de 5 min, de tal forma que las partículas de vidrio alcanzaran la temperatura de sinterización, y uniéndose unas a otras sin fundirse. Una vez desmoldadas las placas, se mantuvieron sumergidas en agua durante 24 h con el fin de disolver los cristales de sal presentes y promover la formación de las estructuras porosas requeridas para la inmovilización del micelio.

Preparación del soporte de pectina: se siguió el método de inmovilización referenciado en literatura (Escamilla *et al.*, 2000), para ello se preparó una solución acuosa de pectina al 8% y se mezcló con un volumen igual de una suspensión micelial del hongo. La mezcla homogeneizada se gotteó en una solución estéril al 3,5%  $\text{CaCl}_2$  y los pellets obtenidos se almacenaron en la misma solución.

Preparación del soporte de PVA: el método de inmovilización se encuentra propuesto en la referencia Ariga *et al.*, 1987. En él, una solución acuosa de 2 a 4% de PVA se mezcló con 10 mL de una suspensión micelial de hongo. Dicha solución se gotteó sobre parafina líquida o aceite mineral blanco, y las esferas formadas se separaron y congelaron a -21°C, después de lo cual se descongelaron y se repitió el proceso de congelamiento cuantas veces fuera nece-

sario, o hasta que se detectara un descenso drástico en la actividad celular.

Determinación de la cantidad de ácido giberélico producido por cromatografía líquida HPLC: para la separación del ácido giberélico se utilizó una columna RP8-LiChrosorb, empleando como fase móvil una solución metanólica al 30% en  $H_3PO_4$  0.01M con un flujo de 1 mL/min y empleando un detector UV a 206 nm. La cuantificación del ácido se hizo mediante comparación con una curva de calibración obtenida para un patrón de ácido giberélico al 90% de Sigma-Aldrich. (Otálvaro, 2005).

Microscopía de barrido electrónico (SEM): para la toma de las micrografías se utilizó un equipo de SEM FEI-QUANTA 200, con un detector LDF, un tamaño de haz de electrones de 4.7, un voltaje de 25 kV y una señal de electrones secundarios.

## RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

Selección de los soportes para la fermentación de ácido giberélico: se hicieron pruebas cualitativas de inmovilización, facilitando el contacto de 5 g del soporte con 7 mL de suspensión micelial del hongo. Las muestras se incubaron a 28°C, con agitación manual cada 24 horas, durante 8 días, al cabo de los cuales se estimó el crecimiento superficial del micelio en la superficie del soporte, así como su capacidad de adhesión al mismo, los resultados obtenidos se resumen en la tabla 1:

Se seleccionó una amplia gama de soportes tanto orgánicos como inorgánicos, siguiendo los procedimientos reportados para la inmovilización en algunos de ellos e implementando otros nuevos como en el caso del vidrio sinterizado.

**Tabla 1**  
**Ensayos preliminares para la selección del soporte**

Soporte	Diámetro de partícula (mm)	Peso de soporte (g)	Volumen de inóculo (mL)	Observaciones
Sílica gel	2380 -2794	5.43	7.0	Buen crecimiento con alta estabilidad del soporte.
Estireno/divinilbenceno	< 1191	3.91	5.0	Crecimiento medio, soporte con comportamiento ligeramente hidrofóbico.
Piedra pómez	1998 -2794	5.24	7.0	Fuerte inhibición del crecimiento, buena estabilidad del soporte.
Levatit K 2431	< 1191	3.49	5.0	Buen crecimiento con alta estabilidad del soporte, pero con dificultades para la desactivación de la resina.
Carbón activado	1678-2380	5.08	7.0	Crecimiento medio-bajo con alta estabilidad del soporte.
Polivinil alcohol (PVA)	3000	—	—	Baja estabilidad del soporte, las esferas se desintegran antes del primer congelamiento.
Poligalacturonato de Ca (pectina)	3000	—	—	Baja estabilidad del soporte, se forman esferas con poca resistencia mecánica, las cuales se desintegran con la agitación.

Se encontraron inconvenientes en la preparación de los soportes porosos de poligalacturonato (pectina) y PVA. El principal problema hallado en ambos casos fue la baja resistencia mecánica lograda en los dos soportes en el momento del entrecruzamiento y formación del pellet. Para solventar este inconveniente se intentó aumentar la concentración de PVA en la solución, pasando a concentraciones entre el 5 - 10%; sin embargo, los resultados no fueron satisfactorios ya que el alcohol polivinílico es insoluble en agua. Es probable que la obtención de un buen soporte de PVA se logre con un polímero de menor peso molecular, pero mayor solubilidad en agua. En el caso de la pectina se optó por reemplazar el entrecruzante por una solución de la misma concentración  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ , reportada como satisfactoria en una inmovilización de levadura (Morad, 1992), así como soluciones de agente entrecruzante de diferente concentración, pero, en estos casos tampoco se obtuvo un resultado aceptable.

Para los soportes preformados el resultado fue diferente. Con la excepción de la piedra pómez, en todos los soportes se logró un crecimiento superficial aceptable, siendo particularmente satisfactorio en los casos de la sílica gel y las placas de vidrio de tamaño de poro controlado. Teniendo en cuenta la dificultad encontrada para la desactivación de la resina de intercambio Levatit K 2431 y la aparente baja polaridad de la matriz de estireno-divinilbenceno y por ende su carácter ligeramente hidrofóbico, se seleccionaron el vidrio, la sílica gel y el carbón activado para los ensayos de fermentación y producción del ácido giberélico.

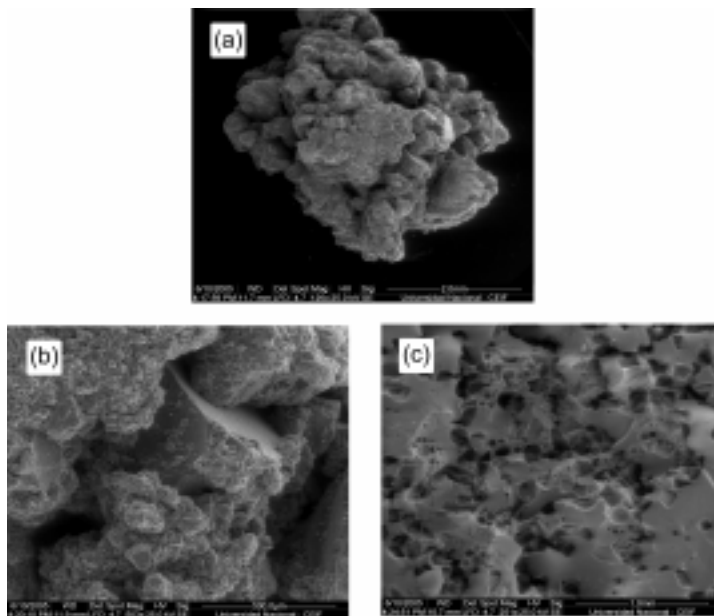
Fermentación con los soportes seleccionados: los biocatalizadores obtenidos se probaron en fermentaciones sumergidas, bajo las mejores condiciones de pH y tempera-

tura encontradas para la fermentación sobre cascarilla de arroz y bagazo de yuca (Otálvaro, 2005). La producción de ácido giberélico se evaluó mediante cromatografía líquida, después de filtrar una muestra a través de una membrana de 0.45  $\mu m$ . El crecimiento del micelio y su inmovilización sobre el soporte se verificó por medio de las micrografías tomadas en SEM. En la figura 1, se pueden observar las diferentes estructuras de los soportes de sílica gel y vidrio sinterizado.

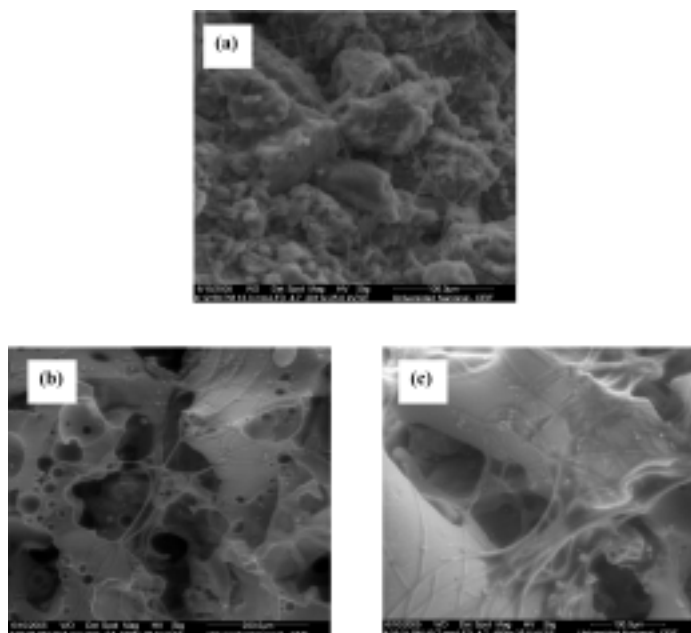
En la figura 2 se pueden apreciar las estructuras miceliarias adheridas a la superficie tanto del vidrio como de la sílica gel. El tamaño del micelio es bastante menor que el de las estructuras porosas de ambos soportes y sin embargo hay una buena adhesión a las paredes. Al parecer se forman estructuras similares a una telaraña y el crecimiento se extiende a lo largo de toda la superficie, siendo algo mayor en unos puntos que en otros.

Es de esperar que el crecimiento fuese en forma de biopelícula, teniendo en cuenta que durante esta fase se proporcionó una agitación constante, pero en ningún momento se suministró suficiente oxígeno como para que la célula lograra crecer más profundamente dentro del soporte.

Cromatografía líquida HPLC: los resultados obtenidos en los diferentes ensayos se consignan en la tabla 2. En donde queda claro que la mayor producción de ácido giberélico se alcanzó con vidrio sinterizado y que ésta se mantenía constante sin importar si la temperatura era 28 ó 30°C, mientras que con el carbón activado se alcanzó una mayor producción de AG trabajando a 30°C. En la figura 3, se presenta el cromatograma correspondiente al ensayo realizado con sílica gel a 28°C, en donde se puede observar la presencia del ácido giberélico representada por un pico con un



**Figura 1**  
Estructuras porosas de los soportes de: sílica gel (a) y (b) y vidrio sinterizado (c)



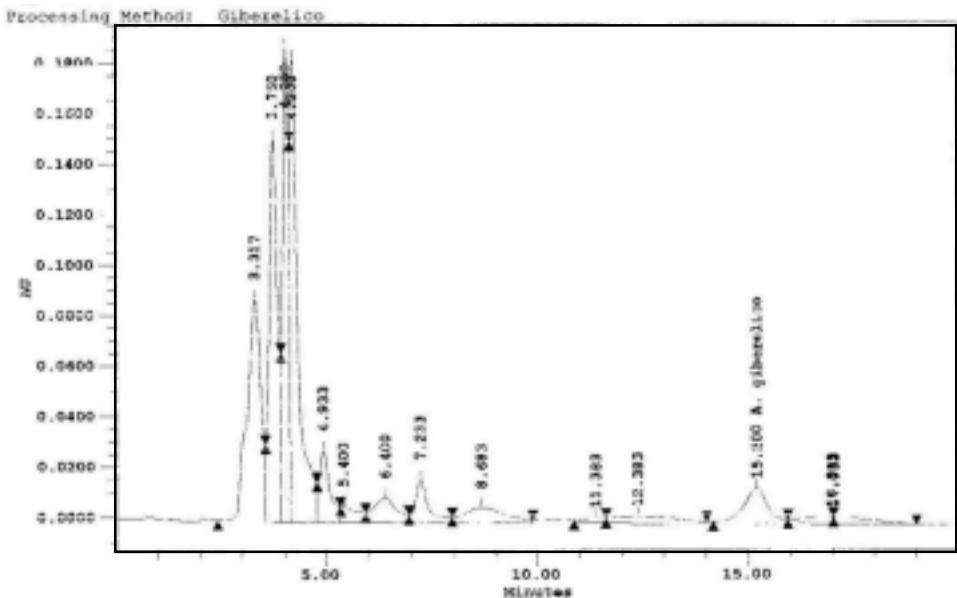
**Figura 2**  
Micelio inmovilizado sobre las estructuras porosas de: sílica gel (a) y vidrio sinterizado (b) y (c)

tiempo de retención de 15.2 minutos (este tiempo de retención se ratificó pasando una muestra del patrón Sigma-Aldrich al 90%). Además, se observan otros picos importantes con tiempos de retención en el intervalo entre 3 y 6 minutos, éstos corresponden a residuos del medio de cultivo, como se verificó pasando una muestra de éste por la columna cromatográfica.

Aunque en este caso coincide que el mayor crecimiento de micelio a ambas temperaturas fue sobre el vidrio sinterizado, y que sobre éste se alcanzó la mayor producción de ácido giberélico, esto no necesariamente tiene que ocurrir, está reportado en la literatura (Agosín *et al.*, 2000) que un crecimiento alto de micelio no sea indicativo de una mayor producción del metabolito esperado. En los experimentos antes mencionados (Otalvaro, 2005), en donde se llevó a cabo una fermentación en fase sólida sobre cascarilla de arroz y bagazo de yuca, se obtuvieron

unos rendimientos de 0.435 mg/g de sustrato base seca y 1.082 mg/g de sustrato base seca, respectivamente.

Las diferencias en cuanto a los rendimientos, comparados con los obtenidos en este trabajo, y teniendo en cuenta que se empleó un medio nutritivo similar y las mismas condiciones de pH y temperatura, se esperaban debido principalmente a que tal y como está reportado en la literatura (Pérez *et al.*, 1996) existe una descomposición del ácido giberélico que promueve la formación de ácido giberélico, así como productos intermedios de esta descomposición, como ácido iso-giberélico un isómero del anterior. Descomposición que se da en medios acuosos, ligeramente ácidos. Es por ello que se considera posible que parte del ácido producido en la fermentación sumergida con las células inmovilizadas se degradará en otras sustancias de menor interés antes de ser analizado por cromatografía. Por esta razón es importante probar otros sistemas



**Figura 3**  
Cromatograma correspondiente al ensayo realizado con sílica gel a 28°C

de biorreacción en donde se empleen los catalizadores desarrollados, sistemas en donde se pueda realizar una extracción paralela del ácido producido. Los resultados obtenidos de la concentración de ácido giberélico para cada fermentación se presentan en la tabla 2.

Aún cuando los resultados en la producción de ácido giberélico mediante los métodos de inmovilización utilizados no fueron concluyentes, el hecho de poder utilizar materiales porosos para soportar las células puede llegar a serlo. Las matrices porosas formadas *in situ*, como es el caso de la pectina y el alcohol polivinílico, permiten la conformación de lechos empacados o fluidizados para la producción de innumerables metabolitos, tanto primarios como secundarios (Karel, 1985). Además es importante considerar que las matrices porosas preformadas confieren mayor estabilidad al sistema en tanto su resistencia mecánica es mayor. (Wiseman, 1985).

Adicionalmente, el desarrollo de soportes de tamaño de poro controlado hace extensivo el uso de biorreactores con células inmovilizadas a diferentes tipos de tecnologías. (Wiseman, 1985).

La posibilidad de formar placas de vidrio sinterizado, plantea la alternativa de diseñar sistemas de flujo similares a los de los intercambiadores de calor de placas, que han demostrado ser una de las unidades más eficientes para la transferencia de calor dada su configuración, puesto que permiten poner en contacto cantidades significativas de fluidos con grandes áreas efectivas de trabajo. Las placas pueden ser fabricadas de acuerdo al tamaño, forma y espesor requeridos, mediante la construcción de un molde adecuado. Si bien es cierto que no hay referencias de un trabajo similar a escala industrial, algunos autores reportan métodos para mejorar la estabilidad de las placas y sugieren alternativas para desarrollar soportes similares con materiales cerámicos que pudiesen ser incluso mucho más económicos que el vidrio sinterizado. (Wiseman, 1985).

### CONCLUSIONES

Es posible llevar a cabo la inmovilización del hongo *Gibberella fujikuroi* sobre carbón activado y vidrio sinterizado, para posteriormente usar el biocatalizador formado en la producción de AG por fermentación sumergida, alcanzando un rendimiento

**Tabla 2**  
**Concentración de ácido giberélico para cada fermentación según HPLC**

Ensayo	pH	T (°C)	Soporte	Concentración de AG (mg/g medio)
1	4.5	28.0	Sílica gel	0.020
2	4.5	28.0	Carbón activado	0.015
3	4.5	28.0	Vidrio sinterizado	0.040
4	4.5	30.0	Sílica gel	0.045
5	4.5	30.0	Carbón activado	0.055
6	4.5	30.0	Vidrio sinterizado	0.040



máximo de 0.055 mg de AG/ g de medio nutritivo.

El método de inmovilización de hongos miceliares en matrices porosas preformadas, y formadas *in situ*, resulta ser un proceso bastante sencillo, si las superficies a las cuales se quiere adherir el micelio poseen poros de un tamaño ligeramente mayor que el del propio micelio, o una superficie lo suficientemente irregular como para que se genere una gran área de contacto.

El empleo de biocatalizadores está estrechamente asociado al contacto con un medio acuoso, lo cual representa ciertas ventajas desde el punto de vista operativo (control de las variables asociadas al proceso) pero, puede implicar inconvenientes en la producción de ciertos metabolitos especialmente sensibles a la presencia del agua, como lo es el ácido giberélico.

Si se quiere optimizar el desempeño del biocatalizador se debe estudiar a fondo la relación existente entre el tamaño del microorganismo que se quiere inmovilizar y el tamaño del poro o de la partícula de soporte. Teniendo en cuenta los casos en los que se requiere tener un buen crecimiento celular, es claro que dicho crecimiento se dará en forma de biopelícula. En estos casos el problema a optimizar es el del área superficial sobre la cual se forma la biopelícula (entre menor sea el tamaño de la partícula, mayor será la relación entre el diámetro y el área superficial disponible).

## AGRADECIMIENTOS

Los autores de este trabajo expresan sus agradecimientos a la Universidad Nacional de Colombia Sede Bogotá y en especial al Departamento de Ingeniería Química por permitirnos llevar a cabo este proyecto, y a la DIB por el apoyo financiero (resolución 087 del 16 de febrero de 2005).

## LITERATURA CITADA

- ARIGA, O.; TAKAGI, H.; NISHIZAWA, H.; SANO, Y. 1987. Immobilization of microorganisms with PVA hardened by iterative freezing and thawing. *Journal of Fermentation Technology* 65 (6): 651-658.
- ATKINSON, B.; FOWLER, H.W. 1974. *Advances in biochemical engineering*, vol. 3.
- BORROW, A.; BROWN, S.; JEFFERYS, E.G.; KESSELL, R.H.; LLOYD, D.; LLOYD, P.; ROTHWELL, A.; ROTHWELL, B.; SWAIT, J.C. 1964. The kinetics of metabolism of *Gibberella fujikuroi* in Stirred Culture. *Canadian Journal of Microbiology*. 10: 407-445.
- CHIEN, C.S.; LEE, W.C.; LIN, T.J. 2001. Immobilization of *Aspergillus japonicus* by entrapping cells in gluten for production of fructooligosaccharides. *Enzyme and Microbial Technology* 29: 252-257.
- DURAND, A. 2003. Bioreactor designs for solid state fermentation. *Biochemical Engineering Journal* 13: 113-125.
- ESCAMILLA, E.M.; DENDOOVEN, L.; MAGAÑA, I.P.; PARRA, R. 2000. Optimization of gibberellic acid production by immobilized *Gibberella fujikuroi* Mycelium in Fluidized Bioreactors. *Journal of Biotechnology* 76: 147-155.
- GELMI, C.; PÉREZ-CORREA, R.; AGOSIN, E. 2002. Modelling *Gibberella fujikuroi* Growth and GA<sub>3</sub> production in solid state fermentation. *Process Biochemistry* 37: 1033-1040.
- GELMI, C.; PÉREZ-CORREA, R.; GONZÁLEZ, M.; AGOSIN, E. 2000. Solid substrate cultivation of *Gibberella fujikuroi* on an inert support. *Process Biochemistry* 35: 1227-1233.

- JONES, A.; PHARIS, R.P. 1987. Production of gibberellins and bikaverin by cells of *Gibberella fujikuroi* Immobilized in Carrageenan. *Fermentation Technology* 65: 717-722.
- KAREL, S.; LIBICKI, S.; ROBERTSON, C. 1985. The immobilization of whole cells: engineering principles. *Chemical Engineering Science* 40: 1321-1354.
- LU, Z.X.; XIE, Z.C.; KUMAKURA, M. 1995. Production of gibberellic acid in *Gibberella fujikuroi* adhered onto polymeric fibrous carriers. *Process Biochemistry* 30 (7): 661-665.
- MORAD, N. 1992. *Estudio comparativo de 3 biocatalizadores con células inmovilizadas por atrapamiento para la fermentación alcohólica*. Trabajo de Grado, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.
- OTÁLVARO, A.M. 2005. *Obtención de ácido giberélico por fermentación en fase sólida*. Tesis de maestría, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.
- PANAGIOTOU, G.; KEKOS, D.; MACRIS, B.; CHRISTAKOPOULOS, P. 2003. Production of cellulolytic and xylanolytic enzymes by *Fusarium oxysporum* Grown on Corn Stover in Solid State Fermentation. *Industrial Crops and Products* 18: 37-45.
- PANDEY, A. 2003. Solid-state fermentation. *Biochemical Engineering Journal* 13: 81-84.
- PEREZ, F.; VECCHIOLA, A.; PINTO, M.; AGOSIN, E.; 1996. Gibberellic Acid Decomposition and Its Loss of Biological Activity in Aqueous Solutions. *Phytochemistry* 41 (3): 675-679.
- VINEGRA-GONZÁLEZ, G.; FAVELA-TORRES, E.; AGUILAR, C.N.; ROMERO-GÓMEZ, S.J.; DIAZ-GODINEZ, G.; AUGUR, C. 2003. Advantages of fungal enzyme production in solid state over liquid fermentation systems. *Biochemical Engineering Journal* 13: 157-167.
- WISEMAN, A. 1985. *Manual de biotecnología de las enzimas*, 1ª ed., Zaragoza, Acriba S.A.

Recibido: 26.04.2006  
Aprobado: 31.08.2006