

Producción de levana-sacarasa a partir de *Lactobacillus reuteri* 14171

Álvaro Santiago Torres¹, Blanca Rosa Aguilar Uscanga¹, Hugo Sergio García Galindo², y Josué Raymundo Solís Pacheco^{1*}

^{1*}Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías, Universidad de Guadalajara. Blvd. Marcelino García Barragán 1451. Col. Olímpica, 44420. Guadalajara, Jalisco. México. Tel/Fax: 01 33.

² Instituto Tecnológico de Veracruz, Calz. M.A. de Quevedo 2779 C.P. 91860
Correo electrónico: joesolis@gmail.com.

Palabras clave: *Lactobacillus reuteri*, prebiótico, fermentación

Introducción. La síntesis de fructanos no es exclusiva de las plantas ya que un buen número de microorganismos pueden llevarla a cabo, mediante enzimas del tipo de las fructosiltransferasas (FTF), empleando sacarosa como sustrato (1). Entre los microorganismos productores de fructanos destacan varias especies de bacterias Gram positivas, algunas del género *Bacillus*, incluidas *B. subtilis*, *B. circulans*, *B. polymyxa*, *B. amyloliquefaciens* o *Lactobacillus reuteri*. Las principales enzimas responsables de la producción de fructanos como la síntesis de inulina es la sacarosa-1F-fructosiltransferasa o inulosacarasa y para la síntesis de levanos la sacarosa-6F-fructosiltransferasa o levana-sacarasa (2, 3).

Metodología. La cepa utilizada fue el *Lactobacillus reuteri* 14171, proporcionada por el Instituto Tecnológico de Veracruz. Las cinéticas fermentativas del *L. reuteri* 14171 se llevaron a cabo en medio MRS, a temperatura de 37°C, en condiciones anaeróbicas, pH inicial de 5.4 a nivel matraz. Se tomaron muestras a lo largo de la cinética para monitorear el crecimiento de la bacteria y la actividad enzimática. Los análisis de actividad de la levana-sacarasa (producción de levanos) se llevaron a cabo a través de cromatografía líquida (HPLC), utilizando una columna Metacarb Ca plus 300X7.8 mm (Varian) a 75°C, utilizando agua como eluyente, con un flujo de 0.6 mL/min. El consumo sustrato se realizó con una columna Microsorb 60 Amino 250 X 46 mm utilizando como eluyente acetonitrilo-agua(65/35), a temperatura ambiente y un flujo de 1 mL/min.

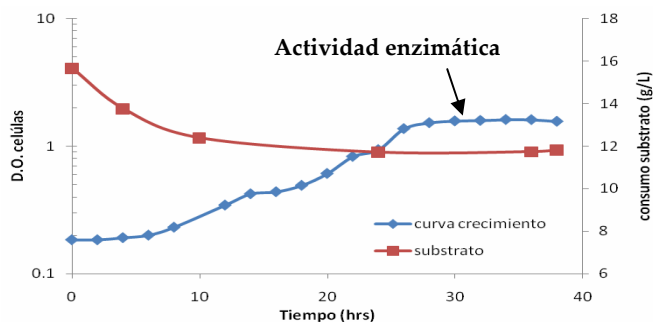


Fig. 1. Cinética fermentativa de *L. reuteri* en medio MRS para la producción de levana-sacarasa

Resultados y discusión. La fermentación tuvo una duración promedio de 48 h en condiciones anaeróbicas, presentando una velocidad de crecimiento de 0.043h^{-1} . La presencia de la levana-sacarasa se detectó a las 34 h de fermentación, determinando en este punto la actividad enzimática (figura 1). Se adicionó 1 mL de muestra de medio de cultivo, la cual contenía la enzima, a un sustrato de sacarosa a concentración de 100 mM y después de 3 horas de reacción, se analizó en el HPLC observándose un pico de levano tal y como se muestra en la fig. 2. El levano fue tratado posteriormente con una inulinasa para validar la producción este, mediante la medición de la liberación de fructosa.

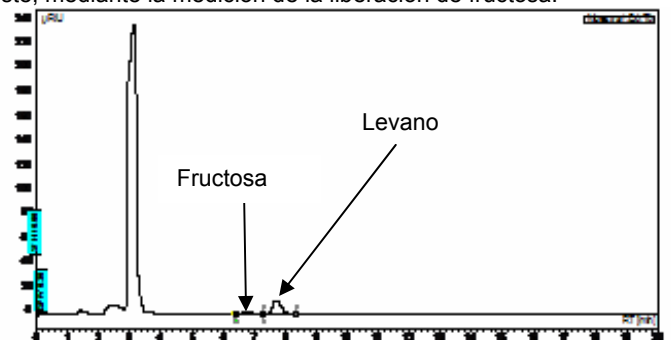


Fig. 2. Cromatograma de producción de levano de una muestra tomada a 34h de la cinética fermentativa.

Conclusiones. Se corroboró la hipótesis de que *L. reuteri* 14171 es capaz de producir la enzima levana-sacarasa.

Agradecimiento. Este trabajo se llevó a cabo gracias a PROMEP/103.5/07.

Bibliografía.

1. Lukasz K. Ozimek, Slavko Kralj, Marc J.E.C van der Maarel and Lubbert Dijkhuizen. (2006). The levanesucrase and inulosucrase enzymes of *Lactobacillus reuteri* 121 catalyze processive and non-processive transglycosylation reactions *Microbiology*: 1187-1196.
2. Sacha Adrianus Fokke Taco van Hijum (2004). Fructosyltransferases of *Lactobacillus reuteri*. Characterization of genes, enzymes, and fructan polymers. TNO *Nutrition and Food Research*: 10-95.
3. G. H. Van Geel-Schutten, E. J. Faber, E. Smit, K. Bonting, M. R. Smith, B. Ten Brink, J. P. Kamerling, J. F. G. Vliegenthart, and L. Dijkhuizen (1999). Biochemical and Structural Characterization of the Glucan and Fructan Exopolysaccharides Synthesized by the *Lactobacillus reuteri* Strains. *Applied Environ. Microbiology*: 3008-3014.