



HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA CONTÍNUA

E INTERMITENTE DE FRUCTANAS DE AGAVE.

Ángela Ávila-Fernández, Clarita Olvera, Xóchitl Rendón-Poujol, Fernando González y Agustín López-Munguía*.

Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México. Apartado Postal 510-3 Cuernavaca, Morelos 62250, México. Fax: (52-777) 3172388. agustin@ibt.unam.mx

Palabras clave: Agave, hidrólisis, Inulinasa.

Introducción. Las fructanas de agave son polímeros de fructosa altamente ramificados (1) que son almacenados mayoritariamente en la base del tallo (piña) de la planta. Esta reserva de carbohidratos es utilizada en la elaboración de tequila y jarabes de fructosa. En los procesos tradicionales de producción de tequila, las piñas son cocidas en hornos o autoclaves con la finalidad de hidrolizar las fructanas liberando fructosa, mientras que en los procesos modernos, la extracción se hace en continuo en difusores a contracorriente y la hidrólisis en una etapa posterior (2). El mosto rico en fructosa derivado de la transformación química de las fructanas es posteriormente fermentado y destilado para dar origen a la bebida. La etapa de hidrólisis de fructanas se ha desarrollado en forma tradicional con poca intervención tecnológica en contraste con procesos de transformación análogos en la industria de bebidas fermentadas tales como la extracción e hidrólisis enzimática de almidón para obtener azúcares fermentables para la producción de cerveza.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la extracción e hidrólisis enzimática de las fructanas de agave en forma continua (en difusor) o intermitente utilizando el producto comercial Fructozyme L, el cual contiene una mezcla de enzimas que hidrolizan fructanas.

Metodología. *Ensayos de hidrólisis de fructanas:* La hidrólisis enzimática de fructanas en piñas de agave desgarradas se desarrolló a diferentes concentraciones de Fructozyme L a 60°C utilizando una relación agave:agua (1:1) en un proceso en lote, en un sistema semicontinuo de laboratorio y en un difusor industrial. La concentración de enzima está referida al peso del agave del que fueron obtenidos los extractos. *Cuantificación de azúcares:* Para la cuantificación de fructosa las muestras fueron centrifugadas y analizadas por HPLC-IR utilizando una columna para carbohidratos (Waters, 4.6 x 250 mm) a 35°C, eluyendo con una mezcla de acetonitrilo:agua (80:20) a un flujo de 1.0 mL/min.

Resultados y discusión. Se analizó el efecto de la concentración de enzima utilizando como sustrato extractos de agave obtenidos en un difusor industrial, con aprox. 100g/L de fructanas. Se observó que con sólo 0.05% v/w de enzima en 15min se alcanza ya un 50% de hidrólisis de las fructanas.

Como un enfoque alternativo se estudió la hidrólisis simultánea a la extracción de fructanas en un sistema intermitente utilizando como sustrato agave desgarrado de 5 cm³ de volumen promedio. Se observó que en este caso se requiere una concentración de 0.5% v/w de enzima para hidrolizar el 50% del total de azúcares en 45 minutos. La diferencia en los tiempos de reacción y concentración de enzima requeridos en el proceso de extracción/hidrólisis con respecto a la hidrólisis de los extractos acuosos es claramente una consecuencia de la difusión.

La eficiencia de la extracción e hidrólisis simultánea de fructanas de agave también fue evaluada a escala laboratorio en un proceso semicontinuo que simula un difusor industrial. Se observó que alrededor de un 60% de las fructanas son hidrolizadas cuando el tiempo de residencia es de 5 horas cuando el sistema ha alcanzado la fase estacionaria. El proceso se llevó a escala industrial en un difusor de 60m³, llegándose a la conclusión de que el equipo requiere de un control de temperatura más riguroso para la adaptación de las enzimas al proceso de extracción.

Conclusiones. Los experimentos a escala de laboratorio demostraron que la extracción e hidrólisis de las fructanas de agave pueden llevarse a cabo de manera simultánea y continua utilizando inulinasas comerciales en un proceso de extracción a contracorriente con agave desgarrado.

Agradecimiento. Agradecemos el apoyo económico y técnico proporcionado por Allied Domecq Mexico, al proyecto DOMECCQ P151 y a los ingenieros y técnicos de la destilería La perseverancia, así como a los proyectos FOMIX-CONACYT 80360 y la beca 181094 para concluir este trabajo.

Bibliografía

1. Lopez, MG, Mancilla-Margalli, NA, Mendoza-Diaz, G. (2003) Molecular structures of fructans from *Agave tequilana* Weber var. azul. *J. Agric. Food Chem.* 51 (27):7835-7840.
2. Lamas-Robles, R, Sandoval Fabian, GC, Osuna Tenes, AA, Prado Ramirez, R, Gschaedler-Mathis, AC. (2004) *Cocimiento y Molienda. In Ciencia y tecnología del tequila: Avances y perspectivas*, CIATEJ. Mexico. 40-60.