

EVALUACIÓN DE LAS CONDICIONES DE CULTIVO PARA LA PRODUCCIÓN DE
INULINASAS A PARTIR DE POLIFRUCTOSAS DE *Agave tequilana* WEBER

Rosa Isela Corona González, Luis Rodrigo Lezama Gutiérrez, Víctor González Álvarez, José de Jesús Ramírez Córdova y Carlos Pelayo Ortiz

Laboratorio de Procesos Biotecnológicos, Modulo D, Blv. Marcelino García Barragán #142, Col. Olímpica, Guadalajara, Jalisco, fax: (33) 13785900 ext. 7536, correo electrónico del responsable del trabajo: rcoronagonzalez@yahoo.com

Palabras clave: *Inulinasas*, *Agave tequilana*, *Cultivo por lote*.

Introducción. La fructosa en forma de jarabes tiene una amplia variedad de aplicaciones en procesadoras de alimentos, plantas conservadoras de frutas (1) y en la elaboración de productos de calorías reducidas. La demanda de jarabes de fructosa se ha incrementado en años recientes. Tradicionalmente la obtención de jarabes de fructosa se realiza a partir de almidón, por hidrólisis enzimática (con 3 enzimas) llegando a una concentración de 45 % de fructosa. La obtención de fructosa a partir de inulina por vía enzimática con inulinasas se lleva a cabo por una reacción simple produciendo hasta un 95% de fructosa (2). Los microorganismos más empleados comúnmente son especies de hongos del género *Aspergillus* sp. y levaduras del género *Kluyveromyces* (3).

En este trabajo se evaluaron las condiciones cultivo en lote de una cepa de *Saccharomyces cerevisiae* para la producción de inulinasas a partir de polifruktananas de *Agave tequilana*.

Metodología. El medio de cultivo para la producción de inulinasas contenía: polifruktananas de agave, 0.23% NH_4NO_3 , 0.37% $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, 0.05% MgSO_4 , 0.1% KH_2PO_4 , 0.15% extracto de levadura, y 1.5% de agar (pH=5.0) se esterilizó a 110°C por 30 minutos. La determinación de biomasa se llevó a cabo mediante la técnica de peso seco. Para la actividad de inulinasas se colocaron 0.2 ml de sobrenadante (enzima) y 1.8 ml de polifruktananas al 5% en solución amortiguadora de acetatos 0.1 M y pH 4.8 (sustrato), se incubaron a 50°C por 30 minutos y se cuantificaron azúcares reductores por el método de ácido dinitrosalicílico (DNS).

Resultados y discusión. Se probaron diferentes condiciones de cultivo: pH (5 y 5.5), temperatura (30 y 37°C) y concentración de polifruktananas de *Agave tequilana* (30, 50 y 70 g/L). La producción de biomasa y de inulinasas fueron más altas cuando el pH fue de 5.5 (40 U/ml) respecto a pH 5 (20 U/ml), y la temperatura de 30°C (40 U/ml) fue mejor que 37°C (10 U/ml). Para la concentración de polifruktananas el comportamiento fue diferente, a mayor concentración de polifruktananas la concentración de biomasa fue mayor (4.4, 6.6 y 8.2 g/L para 30, 50 y 70 g/L respectivamente), sin embargo la

actividad de inulinasas fue similar a 30 y 50 g/L (cercana a 40 U/ml) y mucho menor a 70 g/L (9.3 U/ml) (Figura 1).

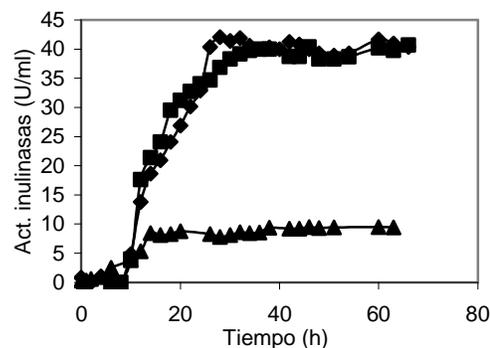


Fig. 1. Producción de inulinasas a diferentes concentraciones de polifruktananas de *Agave tequilana* (◆) 30 g/L, (■) 50 g/L y (▲) 70 g/L.

En todas las fermentaciones realizadas las polifruktananas de agave utilizado como sustrato se agotó completamente y se observó un desacoplamiento del crecimiento y la producción de inulinasas.

Conclusiones. De las variables probadas las condiciones que favorecieron la producción de inulinasas fueron pH 5.5, temperatura 30°C y concentración de polifruktananas de agave de 30 g/L.

Agradecimiento. Agradecemos al CONACYT por el financiamiento para este trabajo a través del programa de Apoyo para Investigadores Nacionales para el Fortalecimiento de Actividades de Tutoría y Asesoría de Estudiantes de Nivel Licenciatura 2008.

Bibliografía.

1. Ricca E, Calabro V, Curcio S, and Lorio G. (2007). The state of the Art in the production of Fructose from Inulin Enzymatic Hydrolysis. *Crit Rev Biotechnol*. 27:129-145.
2. Vranesic D, Kurtanjet Z, Santos AMP, and Maugeri F. (2002). Optimisation of Inulinase production by *Kluyveromyces bulgaricus*. *Food Technol Biotechnol*, 40(1):67-73
3. Silva-Santisteban BY and Filho FM. (2005) Agitation, aeration and shear stress as key factors in inulinase production by *Kluyveromyces marxianus*. *Enz Microb Technol*. 36:717-724.