



OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE HIDRÓLISIS DE FRUCTANOS DEL JUGO DE HOJAS DE AGAVE SALMIANA VAR. CRASSISPINA, CON UN COCTEL ENZIMÁTICO DE INULINASAS

Cristian A. Segura Cerda, Eleazar M. Escamila Silva, Departamento de Ingeniería Química, Instituto Tecnológico de Celaya, Celaya, Gto., CP 38000, caseguracerda@gmail.com

Palabras clave: hidrólisis, Agave, inulinasas.

Introducción. Las hojas del *A. salmiana* var. *crassispina*, son desechos agrícolas destinados a su uso como forraje (1). La tendencia por buscar alternativas a los combustibles fósiles ha llevado considerarlas como potenciales fuentes de azúcares para el proceso de producción de etanol (2), a través de la despolimerización de las inulinas contenidas en su jugo. El uso de enzimas como catalizadores de la hidrólisis es una opción alterna a los tratamientos térmicos y ácidos, y promete eficientes resultados, por lo que su optimización es crucial en el marco de la producción de combustibles de origen no fósil (3).

El objetivo de este estudio fue optimizar el proceso de hidrólisis de los fructanos contenidos en el jugo de hojas de *A. salmiana* var. *crassispina*, empleando un coctel de endo y exo-inulinasas e invertasas obtenidos de *Aspergillus niger*.

Metodología. Se realizó la caracterización del jugo en contenido de azúcares reductores (Miller) y totales (Dubois). Al coctel enzimático le fue determinado el contenido de proteínas totales (Bradford). La optimización del proceso se efectuó a través de un diseño de experimentos ortogonal L_9 para evaluar las mejores condiciones de pH (4.0,4.5,5.0), temperatura (50,55,60°C), relación porcentual enzima/sustrato (0.1, 0.3, 0.5%) y tiempo de hidrólisis (40, 100, 160 min). Los experimentos se realizaron en un medio amortiguado con buffer de acetatos. Las reacciones de hidrólisis fueron detenidas con $Fe_2(SO_4)_3$ 50mM (previo estudio de inhibición), y muestreadas para determinar el contenido de azúcares reductoras generados (Miller, 1959). Los datos fueron analizados con el software *Statistica v.8* y se realizó un experimento confirmatorio bajo las condiciones óptimas encontradas.

Resultados. La caracterización inicial del jugo arrojó un contenido de 27.17g/L de azúcares reductoras (17.16mM) y un total de 69.71g/L de azúcares totales, teniendo como cantidad de sustrato 42.54g/L. El coctel enzimático empleado contenía 17.00g/L de proteínas (0.213mM).

Con los resultados obtenidos de la hidrólisis en los experimentos realizados se generaron las superficies de respuesta que se muestran en las Figuras 1 y 2 respecto a las variables observadas. De cada una de las superficies, se obtuvo un modelo cuadrático para realizar la optimización. Así, se encontraron como condiciones óptimas del proceso: T: 50°C, pH:4.33, %(E/S):0.1% y

t=40min. Bajo estas condiciones, el experimento confirmatorio realizado arrojó un total de 44.23 g/L (245.72mM) de azúcares reductoras en el jugo, con una producción neta de 17.06g/L.

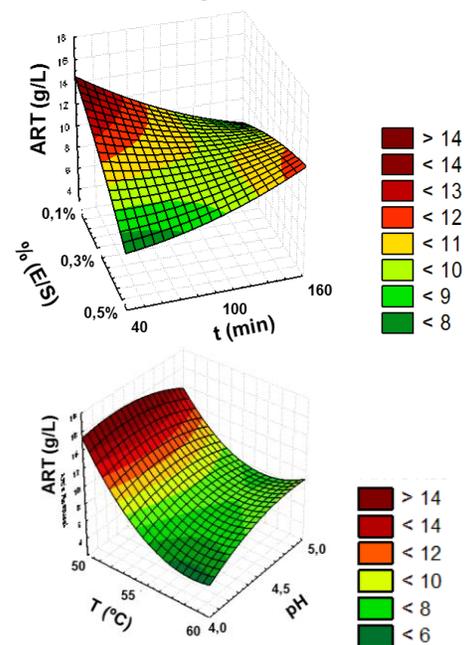


Fig. 1. Superficies de respuesta para generación de azúcares fermentables en relación a los cuatro parámetros estudiados.

Conclusiones. El proceso optimizado de la hidrólisis enzimática de las inulinas contenidas en el jugo de *Agave salmiana* var. *crassispina* resulta más eficiente a temperatura de 50°C, probablemente por desnaturalización de las proteínas del coctel a mayor temperatura. Para el tiempo de hidrólisis resultan suficientes 40min para la cantidad de sustrato empleado, y la relación %E/S es la mínima estudiada, lo que muestra la gran afinidad por el sustrato. El proceso en condiciones óptimas eleva el contenido de azúcares fermentables un 63% en el jugo.

Agradecimiento. Financiamiento SAGARPA (Proyecto 2011-15-174560).

Bibliografía.

- García. E., Méndez S., Talavera D. (2010) RESPYN. Vol (5): 109-129
- González L., García I., Pérez R., Gutiérrez K. y García A. (2007) IUM. Vol (6): 106-111
- Montañez J., Venegas J., Vivar M., Ramos E. (2011) Bioagro. Vol. (23): 199-206