



OPTIMIZACIÓN DE LA ACTIVIDAD INVERTASA DE CEPAS DE *Kluyveromyces marxianus* AISLADAS DE MOSTOS DE MEZCAL

Sergio A. Huerta Alcocer, Erika De la Cruz-Arguijo, C. Patricia Larralde Corona, José A Narváez Zapata. Instituto Politécnico Nacional – Centro de Biotecnología Genómica, Laboratorio de Biotecnología Industrial, Reynosa (Tam) C.P. 88710, México. Email: sergio_hual@hotmail.com

Palabras clave: Invertasa, *Kluyveromyces*, mezcal.

Introducción. La actividad fructanasa incluye la hidrólisis de los enlaces β 2-1 o β 2-6 de los fructanos liberando fructosa. Estas enzimas son producidas por diversos microorganismos, siendo la levadura *Kluyveromyces* la más estudiada (1). El tipo y nivel de actividad fructanasa depende de la cepa y de las condiciones de hidrólisis. Los fructanos son carbohidratos de reserva en los *Agaves* donde constituyen cerca del 65 % de los carbohidratos totales (2), y se han aislado diversas cepas de *Kluyveromyces*, las cuales podrían presentar esta actividad. En este trabajo se analizó la actividad invertasa de cepas de *K. marxianus* aisladas de mostos de mezcal, como un indicador del potencial.

Metodología. El extracto enzimático (EE) se obtuvo de 3 cepas de *Kluyveromyces* (Km) y 1 de *Saccharomyces*, como testigo, en medio YP con sacarosa por 48 h. De estos, se realizó una precipitación proteica con etanol al 90% v/v y se caracterizó la hidrólisis de sacarosa (20 g/L) en agua y acetato. Se optimizó la temperatura y pH de la hidrólisis empleando 50 μ L del concentrado en agua del EE con 950 μ l de amortiguador de fosfatos al 2 % de sacarosa a 50 °C por 40 min y cuantificando los azúcares por DNS.

Resultados. La hidrólisis del EEC concentrado incrementó hasta 3 veces con respecto al EE crudo, tal como reportó (3) (Tabla 1).

Tabla 1. Concentración de proteínas y actividad invertasa

Cepa	Proteínas (g/L)	Azúcar (g/l)	Hidrólisis (%)
<i>Extracto enzimático crudo</i>			
Fermichamp	0.008	0.00	0.0
Km 1Y1	0.009	2.79	14.0
Km 4D4	0.010	5.42	27.1
Km 1Y9	0.011	9.41	47.0
<i>Sobrenadante obtenido por saturación (alcohol 90%)</i>			
Fermichamp	0.003	0.00	0
Km 1Y1	0.004	0.00	0
Km 4D4	0.004	0.00	0
Km 1Y9	0.003	0.00	0
<i>Pastilla en agua obtenido por saturación (alcohol 90%)</i>			
Fermichamp	0.003	0.83	4.2
Km 1Y1	0.020	18.91	94.6
Km 4D4	0.016	18.21	91.1
Km 1Y9	0.025	19.13	95.7
<i>Pastilla en acetatos obtenido por saturación (alcohol 90%)</i>			
Fermichamp	0.003	2.05	10.3
Km 1Y1	0.015	17.85	89.3
Km 4D4	0.011	17.91	89.5
Km 1Y9	0.019	19.28	96.4

Se observaron diferencias en la hidrólisis enzimática de las diferentes cepas de *K. marxianus* y del *Sc Fermichamp* siendo las condiciones óptimas similares a lo reportado previamente (3) (Fig.1)

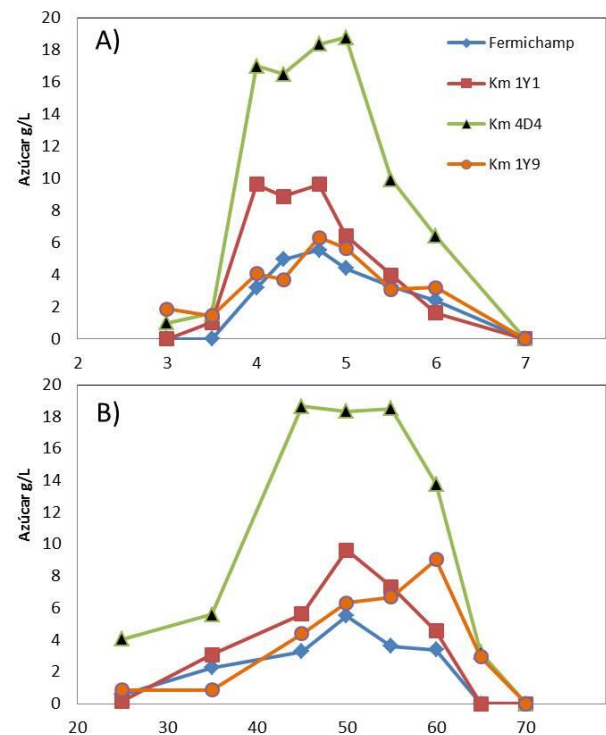


Fig. 1. Determinación del pH (A) y temperatura (B) óptimo para la hidrólisis de 20 g/l de sacarosa en las cepas de estudio.

Conclusiones. El EE de la cepa Km 1Y9 presentó el mayor potencial de hidrólisis en este estudio (96.4%), además de que fue el más termoestable (óptimo a 60 °C), mientras que todas las cepas presentaron un pH óptimo entre 4.3 y 4.7.

Agradecimiento. Se agradece el apoyo económico del Instituto Politécnico Nacional a través de los proyectos SIP 2015-1149 y 2015-1484, así como del CONACyT proyectos FOMIX-Tamaulipas 193682 y Ciencia Básica 2013-01-221289. SAHA agradecen el apoyo BEIFI otorgado por el IPN.

Bibliografía.

- Castillo A, Chamy R (2010). *Scientia Agropecuaria*. 1:235 - 245
- Mancilla-Margalli N, López M (2006). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54:7832-7839
- Singh RS, Dhaliwal R, Puri M (2007). *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 17(5): 733-738