



PURIFICACIÓN PARCIAL DE LA ENZIMA INULINASA DE *Aspergillus kawachii* EN FERMENTACIÓN EN MEDIO SÓLIDO

María Zenaida Saavedra Leos, José Gerardo Gaona Lozano, Olga Araceli Pátron Soberano,
María Isidora Castillo Sánchez, Juan Carlos Contreras Esquivel.

zenaidasaavedra1@hotmail.com.mx

Palabras clave: inulina, inulinasas.

Introducción. En los últimos años se ha observado un incremento en el interés de las inulinasas (2,1-β-D fructan fructanohidrolasa) ya que éstas se encuentran dentro del grupo de las enzimas hidrolasas las cuales tienen diversas aplicaciones en la industria alimentaria y farmacéutica. La inulina es la enzima que actúa sobre los correspondientes enlaces glucosídicos de inulina, polímero que se encuentra constituido por fructosa. Su hidrólisis total produce además de fructosa, un 5 a 6% de moléculas de glucosa que se encuentra en los extremos de la cadena. Las inulinasas son producidas por muchos microorganismos, incluyendo a los hongos filamentosos como *Aspergillus* sp y levaduras como *Kluyveromyces* sp, así como diversas bacterias (Pandey *et al.*, 1999).

El objetivo del presente trabajo de investigación fué estudiar el proceso de purificación parcial de inulinasas a partir de *Aspergillus kawachii* por fermentación en medio sólido, las cuales se utilizaron en la hidrólisis de inulina para la obtención de monosacáridos de fructosa.

Metodología. Para la fermentación sólida se utilizaron matraces de 500 ml con 110 ml de medio de cultivo, cuya composición fue similar al utilizado para la producción de amilasas con esta misma cepa (Sudo *et al.*, 1993), sustituyendo la fuente de carbono por bagazo de piña. Los matraces se incubaron a 30 °C, por 48 y 72 horas. Para la detección de la actividad inulinasa se empleó el método del incremento de poder reductor por la técnica de Somogyi-Nelson y la purificación parcial de la enzima se llevo a cabo mediante métodos cromatográficos: filtración en gel HiTrap™ Desalting 5mL, S300 e intercambio iónico columna HiTrap™ QXL, 1mL catiónica cromatografía.

Resultados y discusión. La máxima actividad enzimática obtenida fue a las 72 horas de fermentación. El extracto se pasó por cromatografía de intercambio iónico donde se determinó la actividad exoinulinasa utilizando como sustrato sacarosa. Como se muestra en la figura 1, la fracción 22 tiene una actividad enzimática exoinulinasa de 17 U/mL, determinada por el incremento del poder reductor; mientras que la actividad endoinulinasa (3 U/mL), se presentó en la fracción 23 determinándose con inulina. Souza-motta *et al* (2005), reportaron actividad inulinasa de 20 U/mL a las 72 horas de fermentación en medio líquido del hongo *Niveus Blochwitz* 4128URM del *Aspergillus* usando 20g/L de inulina como fuente de carbono.

Dado que la exoinulinasa y la endoinulinasa pueden tener semejante punto isoeléctrico, se separó por tamaño mediante cromatografía de filtración en gel S300 (figura 2).

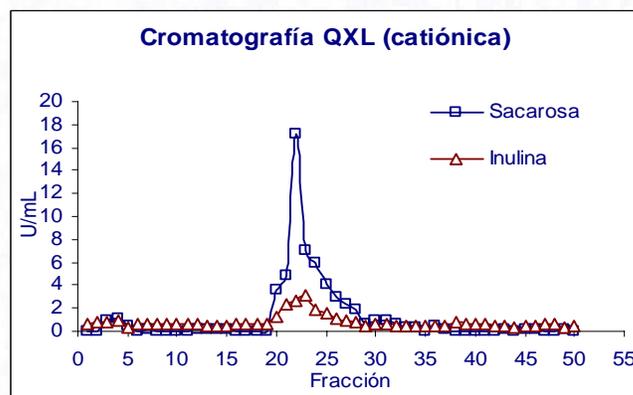


Figura 1. Actividad enzimática exoinulinasa y endoinulinasa en U/mL (cromatografía de intercambio iónico HiTrap™ QXL, 1mL catiónica, búfer de ácido acético acetato 25mM, pH 5 y búfer de ácido acético acetato 25mM, pH 5, 0.5 M NaCl.)

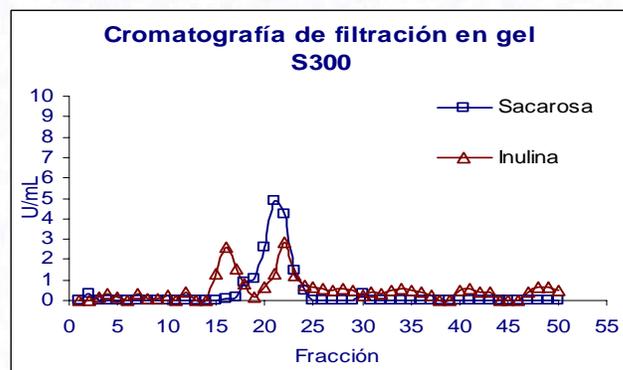


Figura 1. Actividad enzimática exoinulinasa y endoinulinasa en U/mL (cromatografía de filtración en gel S300 búfer de ácido acético acetato 25mM, pH).

Conclusiones: *A. kawachii* es una nueva fuente para producción de inulinasas utilizando fermentación en medio sólido y bagazo de piña como fuente de carbono. La actividad enzimática de la exoinulinasa representa el 85% de la actividad inulinasa total.

Bibliografía.

1. Sudo, S., Ishikawa, T., Takayasu-Sakamoto, T., Sato and Oba T. (1993). *Journal Fermentation Bioengineering*, 76:105-110.
2. Souza-Motta, C., de Queiroz, M., Figueiredo, A., Aparecida, K., Filho, J. (2005). *Braz. arch. biol. technol.* vol. 48, no. 3.
3. Pandey, A. R., Socool, C., Selvakumar, P., Socool, V., Krieger, N. and Fontana, J. (1999). *Applied Biochemistry and Biotechnology*.81:35-50.