



## OBTENCIÓN DE AZÚCARES FERMENTABLES DE LA $\beta$ (2-1) FRUCTAN 1 FRUCTOSILTRANSFERASA DE *Aspergillus niger* INMOVILIZADA POR EL MÉTODO SOL-GEL

Catalino Guerrero Rivero, Rafael Pérez Bedolla, Ignacio García Martínez & L Rodrigo González-González  
Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec. Av. Tecnológico s/n esq. Hank Honzález, Col. Valle de Anahuac,  
C.P. 55210. Ecatepec de Morelos. Estado de México, Tel. 5000-2300 ext. 2227. E-mail: [manoni@infosel.net.mx](mailto:manoni@infosel.net.mx)

*Palabras clave: inulina, sol-gel, inulinasa.*

**Introducción.** La piña del agave *tequilana*, *Weber var. Azul* contiene aproximadamente 75% de carbohidratos, de los cuales se han identificado glucosa, dextrinas, almidón y principalmente inulina. Para la producción de tequila los carbohidratos del agave se hidrolizan por un proceso térmico dando varias moléculas de azúcares libres como la fructosa, alrededor del 20% de sacarosa y el trisacárido 1,  $\beta$ -fructosil inubiosa. La hidrólisis ácida del jugo de agave afecta el rendimiento y el tiempo de fermentación alcohólica debido a las reacciones colaterales, con la consecuente disminución de la actividad microbiana en la fermentación. Debido a la problemática que presenta la hidrólisis ácida se propone utilizar la  $\beta$  (2-1) fructan fructosiltransferasa, soportada por el método de sol gel para la hidrólisis de la inulina.

Obtener azúcares reductores fermentables a partir de la inmovilización de  $\beta$  (2-1) fructan fructosiltransferasa por el método de sol-gel estableciendo la mejor condición de inmovilización enzimática considerando parámetros fisicoquímicos y bioquímicas del sistema sol-gel e inulina

**Metodología.** Se emplearon muestras de inulina del desgarre de Agave tequilana *Weber var. Azul*, enzima  $\beta$  (2-1) fructan fructosiltransferasa de *Aspergillus Níger*, previa extracción. Todos los estándares son grado reactivo, Sigma Chemical Co. (St. Louis Missouri, USA); los reactivos y disolventes empleados grado analítico (J. T. Baker). En la primera etapa se caracterizo la enzima libre para obtener sus parámetros cinéticos, seguido de esto se llevo a cabo la incorporación de la enzima en un soporte mediante el método de sol-gel Brinker (1990). En esta etapa se forman las partículas uniformes sólidas, a partir de geles mediante mecanismos de expansión y estabilización proveniente de aglomeraciones de sólidos cuando estos son secados a 70 °C, existiendo una contracción considerable de la red cristalina capaz de estabilizar al sol gel, es aquí cuando la enzima es incorporada y se observa la evolución de la estructura mediante la consolidación del gel en tiempos de 10 a 15 min para la formación de películas uniformes del sol gel.

La determinación de la actividad enzimática de la  $\beta$  (2-1) fructan fructosiltransferasa se efectuara utilizando el método de DNS, Millar (1959) que nos permite determinar azúcares reductores, utilizando como sustrato inulina. Se determino esta actividad de acuerdo al rango de pH de preparación del mosto tequilero, y las condiciones de trabajo están de acuerdo a los ensayos de enzima libre.

**Resultados y discusión.** La velocidad de reacción encontrada para la enzima soportada es de  $0.155\text{ML}^{-1}\text{min}^{-1}$ . En estas condiciones el pH que mejor se obtuvo fue de 5. La

inactivación de la enzima se logro a la cuarta resiembra La información directa del mecanismo de reacción que cataliza la especificidad de la enzima se reporta en términos de su eficiencia en comparación con la enzima libre. Con el fin de estimar las desviaciones respecto al comportamiento intrínseco, se define un factor de eficiencia  $\eta_{DE}$ , que es igual a la razón, de la tasa de reacción observada a la que debiera obtenerse en ausencia de efectos difusivos o electrostáticos.

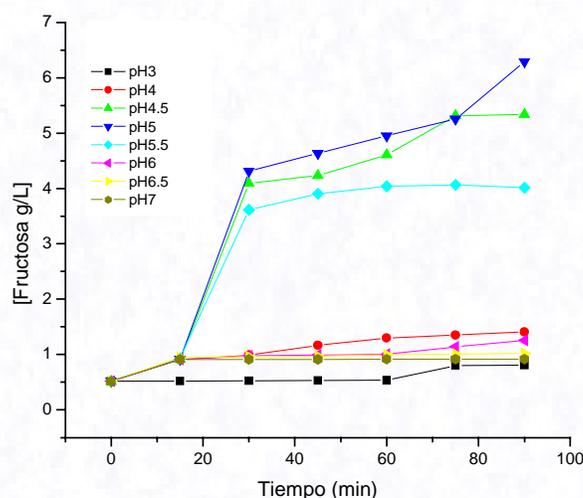


Fig. 1. Evolución de Fructosa con enzima inmovilizada a diferentes pH

**Conclusiones.** A diferencia de una enzima soluble, la enzima soportada en una matriz ejerce su acción catalítica en un medio ambiente heterogéneo, por lo cual, los fenómenos de transporte de las especies químicas involucradas en la transformación, tienen un papel determinante en las tasas de reacción observadas.

### Bibliografía.

1. Arrazola, D.F. de M (1969). *Estudio del contenido de azúcares en la piña de agave tequilana*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química Universidad Autónoma de Puebla, México pp. 4 y 5.
2. Brinker, Jeffrey; Sherer, Georges W. (1990) Sol-Gel, The Physics and Chemistry of Sol-Gel Processing, Cap 1 y 2, Academic Press Inc. Harcourt Brace & Company Publishers, pag 2-30
3. GrootWassink, J.W.D., Fleming S.E. (1980) Non-specific beta-fructofuranosidase (inulinase) from *Kluyveromyces fragilis*: batch and continuous fermentation, simple recovery method and some industrial properties. *Enzyme Microbiol. Technol* 2: 45-53