

CARACTERIZACION DE LA INULOSACARASA DE *Leuconostoc citreum* CW28

Ma. Elena Ortiz,* Agustín López-Munguía. Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México. Av. Universidad # 2001, col. Chamilpa C.P. 62210, Cuernavaca, Morelos. Fax: (52-777) 11 49 03, e-mail: marisoto@ibt.unam.mx

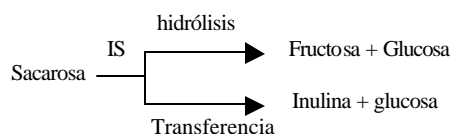
Palabras clave: *Leuconostoc*, fructosiltransferasas, inulina.

Introducción. Las fructosiltransferasas son enzimas que catalizan la formación polímeros de fructosa lineales o ramificados a partir de sacarosa, los cuales reciben el nombre de fructanas. Dentro de estos polímeros los más importantes son: la levana, producida por la enzima levansacarasa, y la inulina, formada por la inulosacarasa (IS). En la inulina, los residuos fructosilo se encuentran unidos con enlaces β -(2-1) en la cadena principal y en algunos casos se observan ramificaciones en β -(2-6). Las fructanas son sintetizadas por un amplio rango de bacterias (1) y de plantas que las almacenan como reserva de carbohidratos (2).

La inulina ha recibido un interés cada vez mayor ya que por sus propiedades de prebiótico incrementa la absorción de minerales e influye en el metabolismo de lípidos, además de tener actividad inmunomoduladora y antitumoral (3). En la industria alimenticia se emplea como texturizante y como fibra dietética (4). La fuente principal para la obtención de inulina a gran escala es la raíz de achicoria (*Cichorium intybus*), por lo que creemos que la obtención del polímero a partir de la inulosacarasa de *L. citreum* es una alternativa económicamente atractiva a la extracción de fuentes vegetales.

Metodología. *Caracterización de los productos de reacción.* Los productos obtenidos en la reacción empleando las células completas, así como aquellos con la enzima libre se analizaron mediante HPLC y utilizando espectroscopía de masas. *Caracterización de la Inulosacarasa de L.citreum.* La enzima se encuentra asociada a la pared celular, por lo que se solubilizó incubando las células con urea y posteriormente se renaturalizó mediante diálisis. La actividad total (hidrólisis y transferencia) se determinó midiendo la liberación de poder reductor a partir de sacarosa por el método del ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS). *Determinación de la especificidad.* La relación hidrólisis/transferencia se cuantificó por HPLC.

Resultados y discusión. En la determinación de las constantes cinéticas de la reacción global, el valor de K_m encontrado fue de 31 mM y la V_{max} de 2.2 U/ml.



Se estudió la influencia de la concentración del sustrato en la especificidad de la IS desde 14 hasta 584 mM de sacarosa, encontrando una inversión en la relación

hidrólisis/ transferencia en la concentración más alta (Fig. 1).

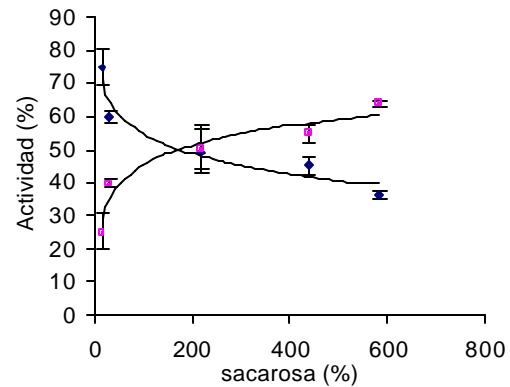


Fig. 1. Especificidad de la IS soluble a diferentes concentraciones de sacarosa. (?) transferencia, (o) hidrólisis.

Cuando la reacción se realiza con la enzima asociada a células, encontramos en el medio de reacción glucosa, fructosa, sacarosa residual, inulina y manitol. Este último compuesto se produce mediante la reducción de la fructosa proveniente de la hidrólisis de la sacarosa. La reacción es catalizada por la enzima intracelular manitol deshidrogenasa en presencia de NADH.

Conclusiones. Se determinaron los parámetros cinéticos de la enzima libre, así como su especificidad hacia hidrólisis y transferencia al modificar la concentración de sustrato. Se analizaron los productos de reacción tanto de la enzima asociada como en solución. Aún falta concluir la caracterización de la enzima asociada a células y del polímero.

Agradecimientos. Este proyecto fue financiado por CONACyT/ 165334 y por DGE/ 2386.

Agradecemos la colaboración del T.L. Fernando González Muñoz .

Bibliografía

1. Dedonder, R. 1966. Levansucrase from *Bacillus subtilis*. In *Methods in Enzymology*. 8:500-505
2. Carpita N, Kanabus, J,Housley, T. 1989. Linkage Structure of Fructanas and Fructan Oligomers from *Triticum aestivum* and *Festuca arundinacea* leaves. *J. Plant Physiol*. 134: 162-168.
3. Roberfroid, M. 1999. Concepts in Functional Foods: The Case of Inulin and Oligofructose. *J. Nutr*. 129: 1398S-1401S.
4. Roberfroid, M. 1999. Caloric Value of Inulin and Oligofructose. *J. Nutr*. 129: 1436S-1437S.