

EFECTO DEL EXTRACTO DE *Agave tequilana* WEBER, TWEEN 80 Y DIFUSIÓN DE OXÍGENO SOBRE LA PRODUCCIÓN DE INULINASAS CON *Saccharomyces* SP.

R. I. Corona González, C. Pelayo Ortiz, V. González Álvarez, L.G. García Pérez, F. Mejía Cárdenas
Blv. Gral. Marcelino García Barragán # 1451, Col. Olímpica, C.P. 44430 Guadalajara, Jalisco.
Tel. y Fax (01-3) 6194028 Correo electrónico: cpelayo@ccip.udg.mx

Palabras clave: Agave tequilana, Saccharomyces sp., Inulinasas

Introducción. El proceso típico para la obtención de Jarabes de Alta Fructosa es a partir de almidón mediante tres pasos enzimáticos (?-amilasa, amiloglicosidasa y glucosa isomerasa) alcanzando una concentración de 45% de fructosa (1). Con inulina se lleva a cabo una reacción enzimática (inulinasas) produciendo hasta 95% de fructosa (2) por lo que resulta una alternativa atractiva.

En este trabajo se estudiaron condiciones para incrementar la producción de inulinasas utilizando como sustrato inulina de Extracto de *Agave tequilana* Weber una planta de la región de Jalisco.

Metodología. Todos los ensayos fueron realizados en cultivo por lotes, las variables se muestran en la sección de resultados. El medio de cultivo contenía, 0.23% NH₄NO₃, 0.37% (NH₄)₂HPO₄, 0.1% KH₂PO₄, 0.05% MgSO₄, 0.15% Extracto de Levadura se esterilizó a 110°C por 30 minutos y se trabajó a temperatura 30° C y pH 5.5.

Actividad de inulinasa Se colocó 1 ml de la enzima diluida, 15 ml de una solución al 5% de polifructosanas, en buffer de acetatos (pH 4.8 y 0.1M). Se colocaron en baño de agua a 50 °C por 30 minutos, se paró la reacción y se determinaron azúcares reductores por el método de DNS (3).

Resultados y discusión. Con 10 g/l de sacarosa *Saccharomyces* sp. produjo 39.8 U/ml y la fase estacionaria se alcanzó en 30 horas en tanto que con 10 g/l de Extracto de *Agave tequilana* se obtuvieron 47.8 U/ml de inulinasa, alcanzando la fase estacionaria en 12 h.

La adición de 0.15% de tween 80 incrementó la producción de inulinasa intracelular a 55.4 U/ml de 47.8 U/ml generada en un medio sin tween 80. El tween 80 es un surfactante que ayuda a recobrar las enzimas actuando sobre la pared celular liberando la enzima intracelular, la adición del surfactante incrementó en 15.8% la enzima extracelular.

Se estudió el efecto de la concentración de Extracto de *Agave tequilana* sobre la producción de inulinasa. Se obtuvieron 55.4 U/ml y 71.6 U/ml con 10 y 20 g/l de extracto respectivamente (Cuadro1).

Cuadro 1. Actividad de inulinasas en diferentes condiciones de cultivo de *Saccharomyces* sp.

Actividad de Inulinasas (U/ml)	10 g/l Sacarosa	10 g/l Ext. Agave	20 g/l Ext. Agave
0% Tween	39.8	47.8	-
0.15% Tween	-	55.4	71.6

La producción de inulinasas con *Saccharomyces* sp. es dependiente de oxígeno, para este estudio se llevaron a cabo experimentos con diferentes condiciones de aireación y agitación: 0.3 vvm y 0.6 vvm, 200 rpm y 300 rpm respectivamente. Se observó una producción de 10 g/l de biomasa en ambos experimentos, solo que cuando se trabajó a 0.6 vvm y 300 rpm se duplicó la enzima a 154 U/ml de inulinasa y la fase estacionaria se alcanzó en 24 horas, en comparación con 0.3 vvm y 200 rpm con la que se produjeron 71.6 U/ml de inulinasa y la fase estacionaria se alcanzó en 12 horas (Fig. 1).

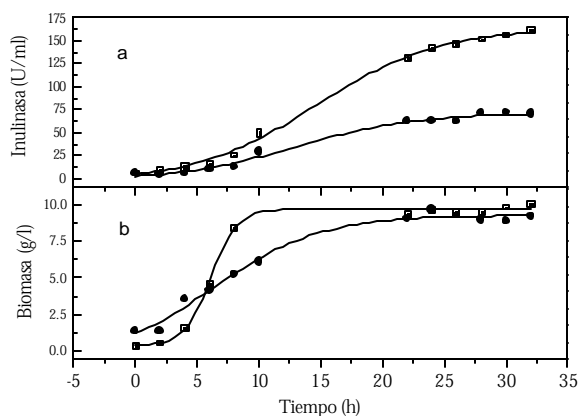


Figura 1 Producción de inulinasa con *Saccharomyces* sp en cultivo por lote. (?) 0.3 vvm y 200 r.p.m. y (!) 0.6vvm y 300 r.p.m.

Conclusiones. Las diferentes variables analizadas mostraron efecto positivo en la producción de inulinasas. Los resultados fueron mejores que los reportados en la literatura. En este momento se llevan a cabo diferentes estudios con el extracto de hojas de agave (cientos de toneladas son abandonadas en los campos) para resolver uno de los grandes problemas de contaminación en la región de Jalisco.

Bibliografía.

- Gupta, A.K., Pal Singh, D., Kaur, N. and Singh, R. (1994). Production, Purification and Immobilization of Inulinase from *Kluyveromyces fragilis*. *J. Chem. Tech. Biotechnol.* vol. 59. pag. 377-385.
- Vandamme, E. J. and Derycke, D. G. (1983). Microbial inulinasas: Fermentation process, properties, and applications. *Advances Applied Microbiology.* Vol. 29, pag. 139 - 176.
- Wood, W.A. and Kellogg, S. T. (1988). Cellulose and Hemicellulose. *Methods in Enzimology.* Academic Press, Inc. vol. 160 pag. 91-98.

