



# XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



## PRODUCCIÓN Y APLICACIÓN DE INULINASAS UTILIZANDO PENCA DE *Agave tequilana* Weber var. azul COMO FUENTE DE CARBONO EN CULTIVO SUMERGIDO CON EL HONGO *Aspergillus niger* CH – A – 2010

Luis Gutiérrez<sup>1</sup>, Jesús Villegas<sup>1</sup>, Carlos Huitrón<sup>2</sup>, Mauricio A. Trujillo-Roldán<sup>1</sup>, Abel Blancas<sup>1</sup>  
<sup>1</sup> Unidad de Bioprocesos, <sup>2</sup> Departamento de Biología Molecular y Biotecnología, Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM, C. P. 04510 México D. F.  
luisbaal@hotmail.com, planta@servidor.unam.mx

*Palabras clave: Agave tequilana, inulina, Aspergillus niger*

**Introducción.** La industria tequilera procesa alrededor de un millón de toneladas anuales de *Agave tequilana* Weber var. Azul (CRT, 2010). Las pencas de agave son un residuo de la producción de tequila, éstas se dejan en el campo de cultivo generando focos de contaminación y tienen poca aplicación industrial. Las pencas contienen carbohidratos como inulina, pectina y xilanos, que podrían usarse como fuente de carbono para la producción de enzimas microbianas de interés industrial. En investigaciones recientes se ha observado que en fermentaciones sumergidas a nivel de matraz con *A. niger* CH – A – 2010 utilizando penca de *A. tequilana* como fuente de carbono (Huitrón et al., 2008). El hongo produce enzimas con actividad para hidrolizar xilanos, pectina e inulina. Una de estas enzimas (inulinasas) han alcanzado gran interés para la industria alimentaria por su potencial para producir fructosa y fructooligosacáridos (FOS), los cuales son considerados como prebióticos (Kelly G., 2008). Por lo que este trabajo plantea la utilización de las pencas de agave para la obtención de inulinasas, su aplicación para hidrolizar sustratos ricos en inulina y la obtención de azúcares reductores y FOS.

**Metodología.** Se llevaron a cabo fermentaciones con *A. niger* CH – A – 2010 a nivel de fermentador de 10 litros utilizando penca de agave al 1.5% como fuente de carbono, (NH<sub>4</sub>)SO<sub>4</sub> al 0.4% como fuente de nitrógeno, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> al 0.05% y KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> al 0.05%. Posteriormente, se realizó un proceso de separación y purificación con un equipo Pellicon de Millipore (membrana de corte de 10,000 Da) hasta la obtención de un extracto crudo enzimático. Estos extractos a concentración de 1000 unidades (1 unidad es la cantidad de enzima que libera 1 μmol de azúcares reductores por minuto) (Ohta K., et al., 2004), se probaron sobre diferentes tipos de inulina como sustrato y se determinó la concentración de azúcares liberados por el método del ácido 3,5-DNS (Miller, G., 1959) a diferentes tiempos.

**Resultados.** Se seleccionaron las condiciones de cultivo para la producción de inulinasas en fermentador de 10 L las cuales fueron: 37° C, 200 rpm, 1 vvm, obteniéndose una actividad de 1.2 U/mL. En un comparativo de los extractos enzimáticos obtenidos con las enzimas comerciales (tablas 1 y 2) muestran que el porcentaje de hidrólisis (azúcares reductores liberados) es muy similar

entre ambas enzimas, a las 24 horas de reacción. A tiempos muy cercanos al inicial, se observa que ambas enzimas presentan ya actividad.

Sustrato	Penca de agave	Inulina de agave	Inulina Nanofiltrada	Inulina comercial	Jugo de agave
~ 0 h	0	32.8	70	30.22	30.7
24 h	16.58	100	86.36	98	64.68

**Tabla 1.** Porcentaje de hidrólisis de sustratos ricos en inulina con enzimas de *Aspergillus niger* CH – A – 2010

Sustrato	Inulina de agave	Inulina Nanofiltrada	Inulina comercial	Jugo de agave
~ 0 h	9.56	40.92	10.62	1.1
24 h	99.34	76.74	89.04	53.8

**Tabla 2.** Porcentaje de hidrólisis de sustratos ricos en inulina con enzimas comerciales Sigma.

**Conclusiones.** Las pencas de *A. tequilana* son un sustrato útil en la producción de inulinasas por *A. niger* CH – A - 2010 y éstas son capaces de hidrolizar la inulina presente en la penca para producir azúcares reductores los cuales se podrían utilizar en la producción de alcohol. Los otros sustratos ricos en inulina fueron hidrolizados por los extractos enzimáticos de *A. niger* CH – A - 2010, para producir fructosa, la cual podría ser utilizada para la producción de jarabes.

### Bibliografía.

<http://www.crt.org.mx/images/documentos/inventarioagave2010b.pdf>

Huitron C., et al., (2008) "Agricultural waste from the tequila industry as substrate for the production of commercially important enzymes". *J. Environ. Biol.* **29**: 37 – 41.

Kelly G., (2008) "Inulin-Type Prebiotics – A Review: Part 1" *Alternative Medicine Review.* **13**: 315-329.

Ohta K., et al. (2004) "Fungal Inulinases: Enzymology, molecular Biology and Biotechnology". *J. App. Glycosci.* **51**: 247 – 254.

Miller G. L. (1959) "Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugars". *Analytic Chemistry* **31**: 426 – 428.