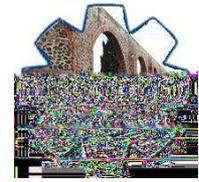




# XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



## EVALUACIÓN DE LAS CONDICIONES DE CULTIVO DE UNA ESPECIE DE *Saccharomyces cerevisiae* PARA LA PRODUCCIÓN DE $\beta$ -FRUCTOSIDASAS

Gonzalo Jacques Fajardo, Rosa I. Corona González, Guillermo Toriz González, Zazil Y. Escalante García y Carlos Pelayo

Departamento de Ingeniería Química, CUCEI-Universidad de Guadalajara. Guadalajara, Jalisco C. P. 44430  
Correo electrónico: rcoronagonzalez@yahoo.com

*Palabras clave:*  $\beta$ -fructosidasas, *Saccharomyces*, Producción.

**Introducción.** Las  $\beta$ -fructosidasas hidrolizan cadenas de polifruktananas en fructosa y fructooligosacáridos (FOS). Las  $\beta$ -fructosidasas (invertasas e inulinasas) actúan sobre las terminales no reductoras de las moléculas de polifruktananas (1). En los últimos años se ha observado un incremento en el interés de las  $\beta$ -fructosidasas, debido a la demanda de jarabes de fructosa, el proceso tradicional de obtención es a partir de almidón necesitando tres pasos enzimáticos para obtener fructosa, en cambio la obtención de fructosa a partir de polifruktananas se lleva a cabo mediante una reacción enzimática simple con  $\beta$ -fructosidasas de la que se obtiene un 95% de fructosa (2). Las  $\beta$ -fructosidasas son enzimas producidas por levaduras, hongos y por bacterias, principalmente especies de *Aspergillus* y *Kluyveromyces*, sin embargo no se ha reportado la producción de  $\beta$ -fructosidasas por cepas de *Saccharomyces cerevisiae* nativas (3). El objetivo del trabajo fue evaluar las condiciones de cultivo de una especie de *S. cerevisiae* aislada del mosto de fermentación de la raicilla para la producción de  $\beta$ -fructosidasas.

**Metodología.** El medio de cultivo para la producción de inulinasas contenía: polifruktananas de agave 1%, 0.23%  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , 0.37%  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ , 0.05%  $\text{MgSO}_4$ , 0.1%  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0.15% extracto de levadura, y 1.5% de agar (pH=5.0) se esterilizó a 110°C por 30 minutos. La determinación de biomasa se llevó a cabo por peso seco. Para la actividad de inulinasas se colocaron 0.4 ml de sobrenadante (enzima) y 3.6 ml de polifruktananas al 5% en solución amortiguadora de acetatos 0.1 M y pH 4.8 (sustrato), se incubaron a 50°C por 20 minutos y se cuantificaron azúcares reductores por el método de ácido dinitrosalicílico (DNS) y HPLC.

El diseño experimental realizado fue del tipo multifactorial  $3^3$  con una réplica en el cual los factores controlados fueron el pH (5, 6 y 7), la temperatura (30, 33 y 37°C) y la fuente de carbono (glucosa, fructosa y fructanas de agave), la actividad enzimática de  $\beta$ -fructosidasas fue la variable de respuesta.

**Resultados.** De los experimentos realizados, la máxima concentración de biomasa alcanzada fue 5 g/L independientemente de las condiciones de cultivo, en todos los casos el sustrato se consumió completamente

entre las 6 y 10 horas de fermentación y el pH se mantuvo aproximadamente constante.

El análisis estadístico de los datos mostró que los 3 factores estudiados para la producción de  $\beta$ -fructosidasas (pH, temperatura y fuente de carbono) y la interacción entre la fuente de carbono y el pH inicial son significativos como lo muestra la tabla 1 (Valor-P < 0.05), además existen 2 grupos homogéneos para la fuente de carbono (fructosa y glucosa), lo que significa que no existe diferencia estadística en el efecto de la glucosa y la fructosa, de manera similar ocurre con el pH no se encontró diferencia estadística entre pH 5 y 7. Para la temperatura, los 3 niveles fueron estadísticamente diferentes (30, 33 y 37°C). Del estudio se encontró que con fructanas de agave como fuente de carbono, a 30°C y pH 6 se obtuvo la máxima actividad de  $\beta$ -fructosidasas (40 U/ml) en 20 horas. Se mostró que las enzimas obtenidas son capaces de hidrolizar fructanas de agave tequilero a fructosa por análisis por HPLC.

**Tabla 1.** Análisis de Varianza para Actividad enzimática – Statgraphics centurión XV

Fuente	SC	Gl	CME	F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A:FC	289.398	2	144.699	4.96	0.0147
B:Temperatura	1023.37	2	511.684	17.53	0.0000
C:pH inicial	604.43	2	302.215	10.36	0.0005
INTERACCIONES					
AB	159.695	4	39.9238	1.37	0.2711
AC	575.465	4	143.866	4.93	0.0041
BC	48.0366	4	12.0091	0.41	0.7987
ABC	167.162	8	20.8953	0.72	0.6756
RESIDUOS	787.92	27	29.1822		
TOTAL (CORREGIDO)	3655.48	53			

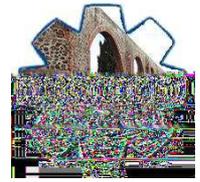
**Conclusiones.** La cepa *S. cerevisiae* es capaz de producir  $\beta$ -fructosidasas con alta actividad, a partir de fructanas de agave, 30°C y pH 6. Las enzimas obtenidas hidrolizan las fructanas de agave en fructosa libre.

### Bibliografía.

- Vandamme EJ and Derycke DG. (1983). Microbial inulinasas: Fermentation process, properties, and applications. *Advances Applied Microbiology*, 29:139 - 176.
- Ricca E, Calabro V, Curcio S, and Lorio G. (2007). The state of the Art in the production of Fructose from Inulin Enzymatic Hydrolysis. *Critical Reviews in Biotechnology*, 27:129-145.



# XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



3.Vranesic D, Kurtanjet Z, Santos AMP, and Maugeri F.(2002).  
Optimisation of Inulinase production by *Kluyveromyces bulgaricus*. *Food Technol. Biotechnol*, 40(1):67-73.