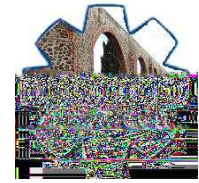




XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



EVALUACIÓN DE LAS CONDICIONES DE CULTIVO DE UNA ESPECIE DE *Saccharomyces cerevisiae* PARA LA PRODUCCIÓN DE β -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: β -fructosidasas, *Saccharomyces*, Producción.

Introducción. Las β -fructosidasas hidrolizan cadenas de polifruktanias en fructosa y fructooligosacáridos (FOS). Las β -fructosidasas (invertasas e inulinasas) actúan sobre las terminales no reductoras de las moléculas de polifruktanias (1). En los últimos años se ha observado un incremento en el interés de las β -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 polifruktanias se lleva a cabo mediante una reacción enzimática simple con β -fructosidasas de la que se obtiene un 95% de fructosa (2). Las β -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 β -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 β -fructosidasas.

Metodología. El medio de cultivo para la producción de inulinasas contenía: polifruktanias de agave 1%, 0.23% NH_4NO_3 , 0.37% $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, 0.05% MgSO_4 , 0.1% KH_2PO_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 polifruktanias 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 β -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 β -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 β -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 | | | |

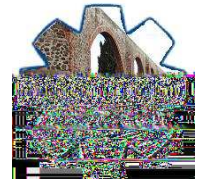
Conclusiones. La cepa *S. cerevisiae* es capaz de producir β -fructosidasas con alta actividad, a partir de fructanas de agave, 30°C y pH 6. Las enzimas obtenidas hidrolizan las fructanas de agave en fructosa libre.

Bibliografía.

- Vandamme EJ and Derycke DG. (1983). Microbial inulinases: 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.