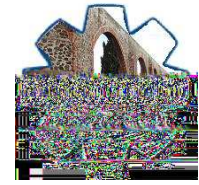




XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



PRODUCCIÓN DE BETA-FRUCTOSIDASAS A PARTIR DE UNA CEPA AISLADA DEL JUGO DE *Agave tequilana* WEBER

Lisardo Díaz Mendoza, Armando Arias García, Zazil Y. Escalante García, Carlos Pelayo Ortiz y Rosa I. Corona González.

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

Palabras clave: Fructanas, Levaduras, Enzimas.

Introducción. La demanda de jarabes de fructosa se ha incrementado en años recientes, pero los altos costos de producción limitan su uso. La obtención de fructosa a partir de polifruktananas por vía enzimática con β -fructosidasas se lleva a cabo por una reacción simple produciendo hasta un 95% de fructosa (1). Las β -fructosidasas (invertasas e inulinasas) son elaboradas por bacterias, levaduras y hongos filamentosos. Los microorganismos más empleados son hongos del género *Aspergillus* sp. y levaduras del género *Kluyveromyces* (2). En la especie de *Agave tequilana*, se ha reportado una mezcla compleja de fructooligosacáridos conteniendo principalmente enlaces del tipo $\beta(2\rightarrow1)$, y $\beta(2\rightarrow6)$ con algunas ramificaciones (3), por lo que a partir de jugo de agave se aisló una levadura para ser evaluada para la producción de β -fructosidasas.

En este trabajo se evaluaron condiciones de cultivo de la levadura de *Kluyveromyces marxianus* var. *drosophilorum* para la producción de β -fructosidasas.

Metodología. El medio de cultivo para la producción de inulinasas contenía: polifruktananas 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 polifruktananas al 5% en solución amortiguadora de acetatos 0.1 M y pH 4.8 (sustrato), se incubaron a 50°C por 30 minutos y se cuantificaron azúcares reductores por el método de ácido dinitrosalicílico (DNS).

Resultados. Se probaron diferentes condiciones de cultivo: pH (5, 5.5 y 6), temperatura (30, 33 y 37°C), 10 g/L de diferentes fuentes de carbono (glucosa, fructosa y polifruktananas de *Agave tequilana*). En todos los experimentos realizados el sustrato se consumió completamente y se tuvo producción de β -fructosidasas de al menos 20 U/ml. En la figura 1 se muestra la producción de β -fructosidasas con diferentes fuentes de carbono (glucosa, fructosa y fructanas de agave) a pH 5 y 37°C. En la que se observa que la producción más alta de β -fructosidasas se obtuvo a partir de glucosa, seguida de fructanas de agave, la menor producción se obtuvo con fructosa. Con 10g/L de fructanas de agave la mayor

producción de β -fructosidasas se obtuvo a un pH inicial de 5 y a una temperatura entre 30-33°C. Las condiciones a las que se obtuvo mayor producción de β -fructosidasas (35 U/ml) fue 37°C, 10 g/L de glucosa y pH, 4.5, lo que resulta novedoso porque las fructanas se considera son un inductor de estas enzimas. Estos resultados indican que existe una interacción entre los factores probados. No obstante es necesario conocer la relación invertasas/inulinasas que produce esta cepa y si el tipo de sustrato modifica esta relación.

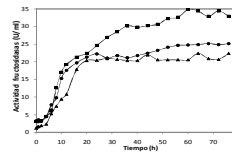


Fig. 1 Actividad de β -fructosidasas de *Kluyveromyces marxianus* var. *drosophilorum* a partir de 10 g/L de sustrato: glucosa (■), fructosa (▲) y polifruktananas de *Agave tequilana* (●).

Conclusiones. La cepa de *Kluyveromyces marxianus* var. *drosophilorum* aislada del jugo de agave fue capaz de producir β -fructosidasas en cantidad importante. La interacción de los factores (temperatura, sustrato, pH, etc.) tiene un efecto significativo en la producción de las β -fructosidasas, ya que las condiciones de cultivo de máxima producción fueron diferentes al cambiar el sustrato.

Agradecimiento. COECYTJAL-UdeG proyecto PS-2009-765.
Bibliografía.

1. 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.
2. Skowronek M, And Fiedurek J. (2004). Optimisation of inulinase production by *Aspergillus niger* using simplex and classical method. *Food Technology and Biotechnology*, 42(3):141-146.
3. López, M., Mancilla-Margalli, N. and Mendoza-Díaz, G. (2003) Molecular structures of fructans from *agave tequilana* Weber. var. *azul*. *J Agric Food Chem* 51, 7835-7840.