

### 33RA. PRODUCCION DE FRUCTANOS UTILIZANDO EXTRACTOS ENZIMATICOS DE *GLUCONACETOBACTER DIAZOTROPHICUS*.

VALENZANO M.A., MOLINARI M.L. Y BOIARDI J.L.

CINDEFI (UNLP; CCT-La Plata, CONICET), Facultad de Ciencias. Exactas - Calles  
47 y 115, La Plata (1900), Buenos Aires, Argentina.

E-mail: [mmolinari@biotec.org.ar](mailto:mmolinari@biotec.org.ar).

#### RESUMEN

Los fructanos poseen un particular interés industrial por sus excelentes propiedades biológicas. Son considerados compuestos prebióticos reconocidos por la FDA (Food and Drug Administration – U.S), son utilizados como componentes de alimentos funcionales. Dentro de sus propiedades biológicas se puede destacar que son edulcorantes de bajas calorías, estimulan el crecimiento de bifidobacterias, también contribuyen a la prevención del cáncer de colon y a la reducción de los niveles séricos de colesterol, fosfolípidos y triglicéridos. La producción comercial de fructanos a partir de sacarosa involucra enzimas de origen bacteriano o fungico. El requerimiento de enzimas más eficientes con una alta actividad y estabilidad enzimática, ha atrapado el interés de los biotecnólogos y microbiólogos. *Gluconacetobacter diazotrophicus* secreta, constitutivamente una levansacarasa (LsdA) que hidroliza la sacarosa produciendo glucosa libre y fructanos de bajo peso molecular (FOS) y alto peso molecular (levanos). En este trabajo hemos discutido la capacidad de diferentes sobrenadantes derivados del crecimiento de *G. diazotrophicus* de producir fructanos por medio de incubaciones, estudiando diferentes condiciones de incubación.

*G. diazotrophicus* PAL 5 fue crecido a 30 °C, en medio LGI suplementado con 1,5 g/l de extracto de levadura y 1,5 g/l de triptona utilizando sacarosa o glicerol como fuente de carbono. Luego de 10 días de crecimiento, los cultivos fueron centrifugados a 16000g durante 30 minutos. Los sobrenadantes obtenidos fueron incubados con una solución de sacarosa en buffer acético/acetato 0,1 M, pH 5,2. Las condiciones estudiadas fueron: 1- relación enzima/sustrato; 2- temperatura de incubación (30, 40 y 50 °C); 3- concentración de sacarosa en la mezcla de incubación (100, 300 y 700 g/l). La producción de fructanos fue seguida durante 7 días. Los levanos fueron cuantificados por la precipitación de estos polisacáridos adicionando 2 volúmenes de etanol obteniendo peso seco del precipitado. Por su parte los FOS fueron testeados por cromatografía en capa delgada (TLC). La glucosa remanente fue cuantificada por un kit enzimático comercial.

Los sobrenadantes derivados de medios con sacarosa muestran una actividad enzimática LsdA menor que los sobrenadantes derivados de medios con glicerol, sin embargo la producción de levanos con sobrenadantes de medios con sacarosa es mayor que los sobrenadantes de medios con glicerol. La producción de levanos fue observada en todas las condiciones testeadas incrementándose con el tiempo de incubación y con la temperatura.

La producción de FOS fue detectada en todas las condiciones, después de las 24 horas de incubación, produciéndose principalmente 1-kestosa.

Bajas concentraciones de sacarosa en la mezcla de incubación favorecen la hidrólisis de sacarosa. La alta concentración de sacarosa en la mezcla de incubación favorece la producción de fructanos de bajo peso molecular.