

CONDE MOLINA, Debora<sup>a</sup>; NOVELLI Poisson Guido<sup>b</sup>; IANNONE Leopoldo J.<sup>c</sup>; GALVAGNO Miguel A<sup>b,c</sup>

<sup>a</sup> Laboratorio de Biotecnología, Departamento de Ingeniería Química, Facultad Regional Delta, Universidad Tecnológica Nacional, Campana, Buenos Aires, Argentina.

<sup>b</sup> Instituto de Investigaciones Biotecnológicas (IIBIO), Universidad Nacional de San Martín (UNSAM)-Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), San Martín, Buenos Aires, Argentina.

<sup>c</sup> Instituto de Micología y Botánica (INMIBO-CONICET), Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Pabellón II, Ciudad Universitaria, CABA, Argentina.-  
miguelgalvagno@gmail.com

## INTRODUCCIÓN

El Yacón, *Smallanthus sonchifolius* (Asteraceae) es un cultivo tradicional andino pre-incaico extendido desde Colombia hasta el norte de Argentina. En sus raíces reservantes acumula hasta un 70% del peso en fructooligosacáridos (FOS, oligómeros de fructosa unidos por enlaces (2→1)-β-glicosídicos), sacarosa y fructosa. En 1981 la FAO declaró al yacón en estado de emergencia promoviendo su conservación y uso sostenible.

Por otra lado, en los alimentos para animales, elaborados en base a cereales el 80% del fósforo se encuentra en forma de ácido fítico (hexakis[dihidrogeno(fosfato)] de (1 $\alpha$ ,2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,4 $\alpha$ ,5 $\alpha$ ,6 $\alpha$ )-ciclohexano-1,2,3,4,5,6-hexaol). El ácido fítico actúa como antinutriente al ser quelante de micronutrientes, Zn y Fe. Debido a su degradación incompleta en animales monogástricos deficientes en actividad de fitasa el fósforo no puede ser asimilado por lo que pasa al medio ambiente con el correspondiente aumento de la DBO produciendo también eutrofización, por lo tanto las dietas deben ser suplementadas con el agregado de fitasa.

## OBJETIVO

En este trabajo se propone valorizar al yacón mediante la utilización de sus azúcares y estudiar la capacidad de la levadura *Debaryomyces occidentalis* para producir actividad fitasa en un medio basado en extracto de *S. sonchifolius* (yacón) (YM).

## METODOLOGÍA

Inicialmente se realizó la localización de la fitasa de *D. occidentalis* mediante fraccionamiento subcelular y formación de protoplastos. Luego se caracterizó la fitasa: pH y temperatura óptima, estabilidad térmica, Km y Vmax para fitato, influencia de cationes divalentes.

Posteriormente, se optimizaron la concentración de YM, temperatura, pH, inóculo, concentración de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y tiempo de fermentación en matraces agitados, utilizando un diseño de optimización Box-Behnken para maximizar la producción de fitasa en YM. Las condiciones óptimas de escalaron un cultivo en batch de 3 L empleando un biorreactor BioFlo 110, New Brunswick Scientific Co.

## RESULTADOS Y DISCUSIONES

La fitasa producida se asoció a la fracción de la pared celular y su actividad óptima se obtuvo entre valores de rango de temperatura y pH de 75-80 ° C y 4.0-5.0, respectivamente, reteniendo el 80% de su actividad a 80 ° C durante 40 min (Fig. 1). Los valores de Km y Vmax para fitato de la fitasa calculados a partir de gráficos de Lineaweaver Burk fueron 2,5 mM y 357 mU/mg de proteína, respectivamente. Los cationes Fe<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup> y Zn<sup>2+</sup> inhibieron la actividad enzimática en un 87, 48 y 35%, respectivamente. Progresivamente el aumento de la concentración de fósforo en el medio inhibió la producción de la enzima, hasta 60% con 0,1% p/v H<sub>2</sub>KPO<sub>4</sub>.

Figura 1. Caracterización de fitasa de *D. occidentalis*. A: pH óptimo. B: temperatura óptima. C: estabilidad térmica.

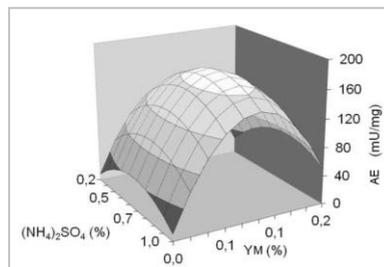
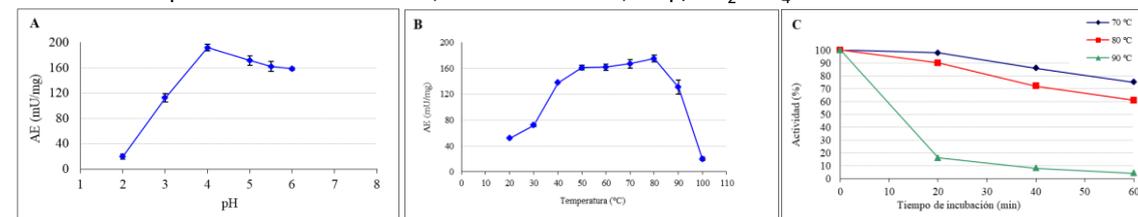


Figura 2. Gráfico de superficie de respuesta de las condiciones óptimas de YM y de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> en función de actividad específica de fitasa de *D. occidentalis*

Los máximos títulos de actividad fitasa se obtuvieron en un medio de cultivo con 0,11% p/v azúcares reductores de yacón, 0,65% p/v de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Fig. 2), pH inicial 5,5, inoculado con 10<sup>7</sup> células/mL, mantenido a 28 ° C y 250 rpm durante 16 h. La actividad máxima de fitasa alcanzada en estas condiciones fue más de 6 veces mayor que en medio no optimizado. El escalado en un biorreactor de tipo STR, O<sub>2</sub> disuelto 30 % saturación, aumentó aún más la productividad de la fitasa en 1,5 veces (Fig. 3).

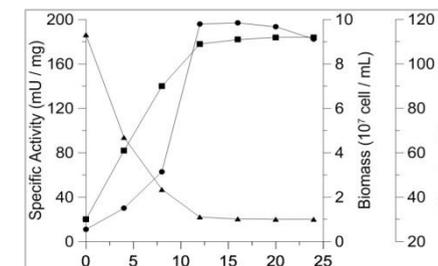


Figura 3. Fermentación en batch para la producción de fitasa de *D. occidentalis* en el medio optimizado con extracto de yacón. •: actividad específica de fitasa. ■: biomasa. ▲ oxígeno disuelto

## CONCLUSIÓN

El yacón resultó ser un sustrato nutritivo alternativo y prometedor para producir una fitasa unida a levadura como aditivo nutricional potencialmente aplicable en la industria de piensos.