

Valorización de un cultivo andino (yacón) mediante la producción de una fitasa de levadura asociada a la célula mediante un proceso estadísticamente optimizado

CONDE MOLINA, Debora^a; NOVELLI Poisson Guido^b; IANNONE Leopoldo J.^c;
GALVAGNO Miguel A.^{b,c}

a) Laboratorio de Biotecnología, Departamento de Ingeniería Química, Facultad Regional Delta, Universidad Tecnológica Nacional, Campana, Buenos Aires, Argentina.

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

c) Instituto de Micología y Botánica (INMIBO-CONICET), Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Pabellón II, Ciudad Universitaria, CABA, Argentina.-

El Yacón, *Smilax sp.* (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. 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 (1r,2R,3S,4s,5R,6S)-ciclohexano-1,2,3,4,5,6-hexailo). 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.

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).

Utilizando un diseño de optimización Box-Behnken, y analizado por metodología de superficie de respuesta se evaluaron las condiciones óptimas para la producción de fitasa en YM optimizando la concentración de YM, temperatura, pH, inóculo, concentración de (NH₄)₂SO₄ y tiempo de fermentación en matraces agitados. Los máximos títulos de actividad fitasa se obtuvieron mediante cultivo a 28 ° C y pH 5,5, con un inóculo de 10⁷ células/mL en medio con 0,11% p/v azúcares reductores de yacón, 0,65% p/v de (NH₄)₂SO₄ y 16 horas de fermentación. La localización de la fitasa se determinó mediante fraccionamiento subcelular y formación de protoplastos. 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, O₂ disuelto 30% saturación, aumentó aún más la productividad de la fitasa en 1,5 veces. 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. 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 Fe²⁺, Cu²⁺ y Zn²⁺ 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 enzimas, hasta 60% con 0,1% p/v H_2KPO_4 .

En conclusión, la biomasa de levadura, la producción de fitasa y la cinética de producción en YM fueron similares a los producidos en un medio a base de melaza de caña. 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.