



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN BIOTECNOLOGÍA APLICADA  
IPN-TLAXCALA**

**POSGRADO EN TECNOLOGÍA AVANZADA**

**ESTUDIO DEL EFECTO DE LA COMPOSICIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO Y DE  
VARIABLES FISICOQUÍMICAS SELECCIONADAS, SOBRE LA PRODUCCIÓN DE  
INVERTASA POR LA LEVADURA MP111a**

**TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:  
MAESTRO EN TECNOLOGÍA AVANZADA**

**PRESENTA:**

**EDNA GUADALUPE CASARRUBIAS SEGURA**

**DIRECTOR:**

**DR. SERGIO RUBÉN TREJO ESTRADA**

**TEPETITLA DE LARDIZABAL, TLAX**

**8 DE ABRIL DEL 2005**

## **RESUMEN**

El sector azucarero en nuestro país es uno de los más importantes económicamente, sin embargo, se encuentra al borde de la quiebra. Una de las alternativas para favorecer su supervivencia y desarrollo consiste en el aprovechamiento de mieles generadas durante el proceso de cristalización del azúcar como materia prima en procesos biotecnológicos.

Las levaduras osmotolerantes son microorganismos capaces de crecer en medios con alta concentración de azúcares y sales, representando una importante fuente de contaminación en la industria de alimentos. La cepa MP111a es una levadura osmotolerante aún no identificada con una elevada actividad de invertasa asociada al paquete celular. Dicha levadura crece y produce invertasa cuando se cultiva en medios líquidos basados en miel final de caña.

La descripción del efecto de diferentes minerales y variables fisicoquímicas sobre la producción de invertasa por Mp111a permitirá mejorar un medio de cultivo y permitirá también establecer las condiciones para la producción comercial de MP111a y de la invertasa asociada al paquete celular.

En el presente estudio se realizaron fermentaciones a nivel de matraz agitado con medios de cultivo basados en miel final, y adicionados con diferentes concentraciones de nutrientes, manteniendo siempre la misma concentración de azúcares (dados por una combinación de sacarosa y miel final). Se obtuvieron entonces formulaciones que permitieron una producción 50% más elevada que la formulación inicial, basada en datos de la literatura técnica.

Estudios posteriores con el medio de cultivo mostraron mayores rendimientos de células e invertasa, permitieron establecer efectos de agitación, temperatura, y concentración de sólidos sobre dichos rendimientos. A nivel de matraz agitado, la mayor producción de invertasa se obtuvo a una temperatura de 30 °C, con una agitación de 200 rpm en matraces con 10 ml de medio y 50 ml de capacidad total. El mayor rendimiento de la enzima se obtuvo con un medio ajustado a 38 °Bx con una concentración de 30% (w/w) de azúcares totales. Con las condiciones seleccionadas se demostró producción exitosa de levadura e invertasa en escalas semipiloto y piloto, es decir, fermentador de 13 lts (CIBA-IPN) y fermentador de 40 lts (Planta Lerma-Metco S. A. de C. V.).

## **ABSTRACT**

Even though the sugar industry in México is one of the most important industrial sectors countrywise, it is almost in bankruptcy. One of the main alternatives to favor its survival and growth consists in the use of molasses, a by product generated during sugar crystallization, as a raw material for biotechnological processes.

Osmotolerant yeasts are microorganisms which can grow in media containing high salt and sugar concentrations. They represent an important source of contamination in the food processing industry. The strain MpIIIa, is an unidentified yeast strain with a high invertase activity associated with the whole cell pellet. The strain grows and produces invertase when it is grown in liquid media based on blackstrap cane molasses.

The precise description of the effect of different mineral components and physico-chemical variables on the production of invertase by MpIIIa will allow us to improve the culture medium and define the conditions for commercial production of MpIIIa and the cell bound invertase.

In the present study, shaken flask fermentations were performed using culture media based on blackstrap molasses, and added with different concentrations of diverse mineral nutrients. In these media formulations, the sugar concentration was set constant by a combination of molasses and sugar. Improved formulations were obtained which allowed for the 50% increase in invertase production when compared to the initial formulation, based on the technical literature.

Subsequent studies with the improved medium formulation demonstrated both higher cell and invertase yields. The effects of shaking, temperature and soluble solid content on those yields were also determined. At the shaken flask level of fermentation, the highest invertase production was attained when the cultures were incubated at 200 rpm in a 50 ml flask with 10 ml volume. Highest enzyme yield was obtained when the medium had 38 Bx and 30% (w/w) total sugar concentration. The selected conditions allowed a successful production of both yeast and invertase at the semipilot (13 lt fermentor at CIBA-IPN), and pilot (40 lt fermentor at METCO facility) scales.