**VII SIMPOSIO INTERNACIONAL DE QUÍMICA**

**Título**

**Escalado del cultivo de *Pichia pastoris* recombinante y la reacción enzimática fructosiltransferasa para producción de fructooligosacáridos**

***Title***

***Scale up of a recombinant* Pichia pastoris *culture and fructosyltransferase enzymatic reaction for fructooligosaccharides production.***

Dr.C Duniesky Martínez García1, Dr. C Ing. Enrique R. Pérez Cruz1, MSc. Yunier Paneque2 Lic. Alina Sobrino Legón1, Ing. Dalia Borges Pérez1, MSc. Raúl Armas Ramos1, Dr.C Lázaro Hernández3, Dr C. Carmen Menéndez3, MSc. Odalys Capote4,Ing. Arodis Caballeros4, Lic. Lv Ning5, Dr.C Ing Iván Rodríguez Rico6.

1-Duniesky Martínez, CIGB Sancti Spíritus, Cuba, duniesky.martinez@cigb.edu.cu

1-Enrique R. Pérez, CIGB Sancti Spíritus, Cuba, enrique.perez@cigb.edu.cu

1-Alina Sobrino, CIGB Sancti Spíritus, Cuba, alina.sobrino@cigb.edu.cu

1-Dalia Borges, CIGB Sancti Spíritus, Cuba, dalia.borges@cigb.edu.cu

1-Raúl Armas, CIGB Sancti Spíritus, Cuba, raul.armas@cigb.edu.cu

2-Yunier Paneque, CIGB Camagüey, Cuba, yunier.paneque@cigb.edu.cu

3-Lázaro Hernández, CIGB Habana, Cuba, lazaro.hernandez@cigb.edu.cu

3-Carmen Menéndez, CIGB Habana, Cuba, carmen.menendez@cigb.edu.cu

4-Odalys Capote, ICIDCA, Cuba, odalys.capote@icidca.azcuba.cu

4-Arodis Caballeros, ICIDCA, Cuba, arodis.caballero@icidca.azcuba.cu

5-Lv Ning, Shandong Lukang Pharmaceutical Co. Ltd., China, 2692774622@qq.com

6-Iván Rodríguez, Facultad de Química Farmacia, Universidad Central Marta Abreu de Las Villas, Cuba, ivanl@uclv.edu.cu

**Resumen:**

**Problemática**: Los fructooligosacáridos (FOS), son prebióticos con efectos probados en la salud. Los FOS pueden producirse utilizando sacarosa como sustrato de las β-fructosiltransferasas (EC 2.4.1.100). Recientemente, la β-fructosiltransferasa 1-SST de la hierba perenne *Schedonorus arundinaceus* se expresó en *Pichia pastoris* como Sa-1SSTrec. Las estrategias de escaldo son necesarias, tanto para la expresión Sa1-SSTrec como para la producción a escala industrial de sirope FOS de grado alimenticio.

**Objetivo (s):** Proponer una estrategia simple de escalado de cultivo incrementado basado en kLa constante y escalar la reacción enzimática de la fructosiltransferasa en la planta de sorbitol para producir FOS.

**Metodología:** Se utilizaron dos criterios para un kLa constante en el cultivo: aumentar la agitación durante la fase discontinua y aumentar el flujo de aire al comienzo de la alimentación. Las condiciones de laboratorio de la relación enzima-sacarosa, temperatura y tiempo de reacción e inactivación se utilizaron a escala industrial para evaluar la producción de fructooligosacáridos.

**Resultados y discusión:** Siguiendo la estrategia de cultivo propuesta, la fermentación se escaló desde laboratorio (10-L) y piloto (50-L) a la escala de demostración/ comercial de 2000-L. El proceso produjo un peso seco de *P. pastoris* (124±4 g/L) y una actividad enzimática (181±25 U/mL) similares a la escala de laboratorio. El escalado de la reacción enzimática produjo similar perfil de FOS (1-Kestosa 87%, Nistosa 13%) al obtenido en el laboratorio.

**Conclusiones:** Las condiciones de escalado aplicadas permitieron reproducir a escala industrial la expresión de enzima y la producción de sirope FOS, utilizando esta innovadora tecnología enzimática.

**Palabras clave:** Fructooligosacáridos, fructosiltransferasa, 1-kestosa, escalado, prebiótico.

***Abstract:***

***Problematic:*** *Fructooligosaccharides (FOS), are prebiotics with proven health-promoting effects. FOS could be produced using sucrose as substrate of β-fructosyltransferases (EC 2.4.1.100). Recently, the β-fructosyltransferase 1-SST from the perennial grass* Schedonorus arundinaceus *was expressed in* Pichia pastoris *as Sa-1SSTrec. The scale up strategies are necessary, both for the Sa1-SSTrec expression and for the industrial-scale production of food-grade FOS syrup.*

***Objective(s):*** *We proposed a simple scale up fed batch fermentation strategy based on constant kLa and also the fructosyltransferase enzymatic reaction scale up in the Sorbitol production plant to produce FOS.*

***Methodology:*** *Two criteria were used to keep a constant kLa throughout the culture: increase the stirrer during the batch phase, increase the air flow at the beginning of the feeding. The lab scale conditions of enzyme-sucrose ratio, temperature and time of reaction and inactivation were used at industrial scale to evaluate the fructooligosaccharide production.*

***Results and discussion:*** *Following the proposed culture strategy the fermentation was scaled up from the lab (10-L) and pilot (50-L) scales to the demonstration/commercial scale of 2000-L. The successful scale up process yielded similar* P. pastoris *dry weight (124 ± 4 g/L) and enzyme activity (181 ± 25 U/mL) reached at lab scale. The development of the enzymatic reaction scale up produced the same FOS profile (1-Kestose 87% and Nystose 13%) obtained at lab scale.*

***Conclusions:*** *The scale up conditions applied let to reproduce at industrial scale the enzyme expression and the FOS syrup production, using this innovative enzymatic technology.*

*Key words: Fructooligosaccharides, fructosyltransferase, 1-kestose, scale up, prebiotic.*