



### OPTIMIZACION DE LOS PARAMENTROS CINETICOS DE LA HIDRÓLISIS ENZIMATICA DE QUITOSANO MEDIANTE UN COMPLEJO ENZIMATICO CELULOLITICO.

Hortensia Ortega Ortiz, Baltazar Gutiérrez Rodríguez, Enoc Barrera Aguilar; Facultad de Ciencias Químicas, Depto. De Biotecnología; Blvd. V. Carranza esq. Ing. José Cárdenas Valdés, Tels (844) 4155752, fax (844) 4159534, Centro de Investigación en Química Aplicada, Blvd. Enrique Reyna Hermosillo 140 CP 25253; Saltillo, Coahuila, baltazar31@yahoo.com

Palabras clave: *Quitosán, celulolíticas, hidrólisis.*

#### Introducción.

Los estudios cinéticos para la obtención de los parámetros óptimos de la hidrólisis enzimática de los biopolímeros naturales son siempre temas de enorme interés por los usos de sus oligómeros en amplios campos de la agroindustria.

El objetivo de este proyecto es la determinación de los parámetros óptimos de la hidrólisis enzimática del Quitosán de alto peso molecular (temperatura, pH, Concentración de la enzima y del sustrato) para la obtención por vía enzimática (utilizando un complejo celulolítico) de oligosacáridos de Quitosán.

#### Metodología.

Se preparo una solución de 10 mg/ml del complejo enzimático celulolítico *Celobiridin (Trichoderma viride)*. Además de una solución de Quitosano (marca marine Chemicals, India). Peso molecular viscosimétrico de 200,000. Grado de desacetilación del 84%. Las reacciones de hidrólisis enzimática se llevaron a cabo en tubos de ensaye sin agitación a diferentes temperaturas (25 a 50°C), a pHs de 4 a 6, con buffer de acetatos; la concentración de la enzima de 0.05 a 0.20 mg/ml y concentración de sustrato de 1 al 5 %; y se determinaron los azucares reductores por el método de Somody-Nelson.

#### Resultados y discusión.

Como se aprecia en la tabla 1. La hidrólisis optima del quitosano fue bajo las siguientes condiciones pH de 4.0, temperatura de 50 °C, la concentración del Sustrato de 0.5 % y la del complejo enzimática 0.20 mg/ml.

Tabla 1. Parámetros Cinéticos óptimos de la Hidrólisis del quitosano.

Parámetros	valores
pH	4.0
Temperatura	50 °C
/S/	0.5 %
/E/	0.15 mg/ml

Con el fin de determinar las constantes cinéticas  $K_m$  y  $V_{m\acute{a}x}$  de la reacción de hidrólisis enzimática del

Quitosán se gráfíco de acuerdo a Lineweaver-Burke como se puede apreciar en la Figura 1.

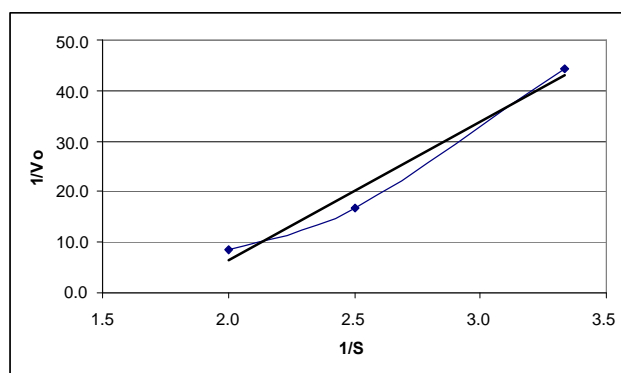


Fig. 1. Grafica de acuerdo a Lineweaver- Burke de la Hidrólisis enzimática del Quitosán.

#### Conclusiones.

El objetivo principal en esta etapa del proyecto se cumplió, al demostrar la viabilidad de hidrolizar al Quitosano de alto peso molecular con enzimas celulolíticas. Se establecieron las condiciones de reacción utilizadas y el comportamiento cinético de la reacción, son similares a las reportadas por otros autores para este tipo de reacciones celulolíticas. Además estos resultados nos permitirán optimizar este proceso mas adelante.

#### Agradecimiento.

Los autores agradecen el apoyo proporcionado por el CONACyT con el proyecto 80425.

#### Bibliografía.

1. Kin Y. *Advance Chitin Science*, **2**, 837-844 (1997).
2. Liu W., Yau K. (2002) "Chitosan and its derivatives". *J. Cont. Rel.*, **83**, 1-11.
3. Ghose T., Montenecourt B.S., Eveleigh D.E. *Measure of cellulase activity*. Preprint of IUPAC Comission on Biotechnology, 1981.