

HIDRÓLISIS DE SACAROSA PRESENTE EN JUGO DE CAÑA UTILIZANDO INVERTASA DE *S. cerevisiae* INMOVILIZADA SOBRE MICROESFERAS DE NYLON-6

Lorena Amaya, Luis Bernardo Flores, Jaime Ortega y Ma. Del Carmen Montes.
 Depto. de Biotecnología y Bioingeniería, CINVESTAV-IPN. Apdo. postal 14-740, 07360 México, D.F.,
 Fax. 5747-33-13. cmontes@mail.cinvestav.mx

Palabras clave: *invertasa, inmovilización, nylon-6.*

Introducción. Los jarabes fructosados se emplean en la elaboración de bebidas carbonatadas, repostería y confitería. Estos jarabes, que generalmente son importados y elaborados a partir de almidón de maíz, han venido a desplazar el uso de sacarosa como edulcorante en nuestro país generando una severa crisis en la industria azucarera. Es por ello que con este trabajo se pretende contribuir a la resolución de esta problemática, desarrollando un sistema de hidrólisis enzimática directa en el jugo de caña utilizando invertasa inmovilizada sobre microesferas de nylon-6. El producto obtenido podría ser competitivo con los jarabes fructosados de maíz.

Metodología. La invertasa fue covalentemente inmovilizada sobre microesferas de nylon-6 (1). La actividad enzimática se determinó por el método del ácido 3,5 Dinitrosalicílico (DNS); la actividad fue medida bajo las siguientes condiciones, tiempo de incubación de 40 seg, temperatura 50 C y una solución de sacarosa 0.3 M en buffer de acetatos 0.05 M pH 5.5. Para los análisis de actividad se utilizaron cantidades conocidas del sistema inmovilizado y 0.050 mL de una solución de enzima conteniendo 0.086 mg/mL. La $V_{m\acute{a}x}$ esta expresada en μmol de sacarosa hidrolizada min^{-1} mg^{-1} proteína y K_m en mM de sacarosa. Se utilizó jugo de caña con 15% de sacarosa.

Resultados y Discusión. La cantidad de enzima unida al soporte fue de 4.93 mg de proteína por cada g de soporte. El factor de efectividad de la enzima inmovilizada (η) fue de 0.85, es decir, la enzima inmovilizada retiene un 85% de la actividad que presentaría si estuviera libre. En el cuadro 1 se observa que la enzima inmovilizada y libre presentan los mismos pH y [S] óptimos, además presentan el mismo perfil al efecto del pH y [S]. La cinética de temperatura para la enzima inmovilizada presenta una meseta que va de 55 a 65 C, en el caso de la enzima libre solo se presenta un pico de máxima actividad a los 65 C. El efecto de la temperatura, para ambos casos, después de los 65 C es negativo, ya que la actividad a los 70 y 75 C cae un 20 y un 60% respectivamente.

Cuadro 1. Comparación de los parámetros físicos y cinéticos de la enzima inmovilizada y libre.

Parámetro	Inmovilizada	Libre
pH	5.5	5.5
Temperatura (C)	55-65	65
[S] (M)	0.1	0.1
$V_{m\acute{a}x}$	2244	1059
K_m (mM)	29.3	24.5

En la figura 1 se observa la cinética característica de inhibición por sustrato para la invertasa, donde la K_i para la enzima libre es de 710 mM y para la inmovilizada 691 mM. Los parámetros cinéticos obtenidos para la enzima inmovilizada se consideran aparentes puesto que no se sabe hasta que punto son minimizados los efectos de transferencia de masa externos.

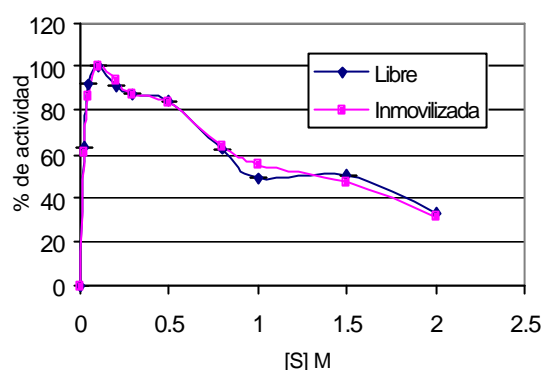


Fig. 1. Efecto de la concentración de sustrato sobre la actividad de la enzima libre e inmovilizada.

Las pruebas realizadas sobre jugo de caña muestran que el biocatalizador perdió entre un 10% y un 15% de su actividad; se cree que esto es debido a la presencia de algunas sales en el jugo de caña.

La inmovilización favorece la reutilización del biocatalizador hasta por 30 lotes seguidos sin perder su actividad inicial.

Conclusiones. En este estudio se inmovilizó covalentemente la invertasa sobre microesferas de nylon-6. Se encontraron valores óptimos de pH y [S] similares para la invertasa inmovilizada y libre, 5.5 y 0.1 M. Se obtuvo un rango para la temperatura óptima de la invertasa inmovilizada (55-65 C) y un solo punto para la enzima libre (65 C). La K_m de la enzima inmovilizada es 1.2 veces la K_m de la enzima libre.

Agradecimiento. Al CONACYT por su apoyo económico.

Bibliografía.

1. Ortega-López J., Morales-Ramos L. H., Montes M.C., Magaña-Plaza I. (1993). Lactose hydrolysis by immobilized b-Galactosidase on nylon-6: a novel spin-basket reactor. *Biotechnology Techniques*. Vol.7 (11): 775-780.