

HIDRÓLISIS DE LA SACAROSA POR INVERTASA INMOVILIZADA EN NYLON-6 EN UN REACTOR CONTINUO

Jazmín M. Vásquez Bahena, Alejandro Santiago Hernández, Ma del Carmen Montes, Ignacio Magaña Plaza
Departamento de Biotecnología y Bioingeniería CINVESTAV

Av. Politécnico Nacional 2508, C.P. 07000 México, D.F. Fax: 57 47 38 00 ext 4309

e-mail: imagana@mail.cinvestav.mx

Palabras clave: Invertasa, inmovilización, nylon

Introducción: La inmovilización de enzimas en soportes insolubles puede mejorar la estabilidad enzimática como también permite reciclar la enzima y separarla fácilmente del producto, lo cual tiene beneficios económicos (2). Dichas ventajas pueden aplicarse a la producción de jarabes fructosos a partir de sacarosa si se cuenta con un método para inmovilizar y un soporte barato, que no afecte la especificidad de sustrato y la velocidad de reacción de la invertasa (EC 3.2.1.26).

En el presente estudio tiene por objetivo analizar al nylon como soporte de inmovilización

Metodología: Se inmovilizó invertasa de levadura en nylon-6 de acuerdo al método descrito por Ortega (1993). La actividad se determinó mediante un kit para glucosa de laboratorios Sigma Chem. Co. U.S.A. por el método de glucosa oxidasa. La cantidad de proteína fue determinado por el método de lowry

Resultados y Discusión: La tabla 1 muestra la cinética de inmovilización donde se aprecia que en media hora se inmoviliza más de la mitad (67%), indicando una alta velocidad de acoplamiento de la invertasa en este periodo. Se trabajó con un reactor de lecho empacada de nylon-enzima cuyo volumen fue 2.6 x 11 cm en una columna encaquetada, de tubo interno: 2.6 x 40 cm, el sustrato fue una solución de sacarosa en regulador de acetatos 0.05M pH 4.6. Las condiciones de operación fueron a una temperatura de 40°C, flujo 10ml/min y un pH 4.6. Se incrementó la concentración en la corriente de alimentación de 5 a 30% (w/v) de sacarosa y su comportamiento es descrito en la figura 1. Aquí se observa que no presenta inhibición por sustrato a esta concentración, a diferencia de la enzima libre que la máxima actividad se logra con concentraciones de sacarosa del 5-10%. En la figura 2 se observa que la K_m es 23mM y $333 \text{ mol} \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ que es semejante al de la enzima libre 20-40 mM y $400 \text{ mol} \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ reportados en la mayoría de la literatura

Tabla 1 Cinética de inmovilización de invertasa

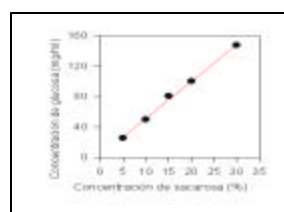


Fig 1 Efecto de la concentración de sacarosa en invertasa inmovilizada a flujo continuo

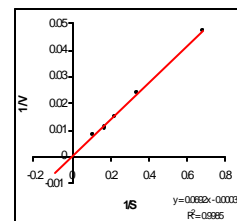


Fig 2 Linearización Lineweber

Conclusiones:

La inmovilización de invertasa utilizando al nylon como soporte no tiene efectos significativos en la afinidad por el sustrato ni en la velocidad máxima de reacción, lo que hace factible a su aplicación en reactores enzimáticos para hidrolizar la sacarosa

Agradecimiento: Al CONACyT por el apoyo económico brindado

Bibliografía:

- Ortega-López, J., LH, Morales-Ramos, MC, Montes and I, Magaña-Plaza. (1993) Lactose hydrolysis by immobilized β galactosidase on nylon-6: a novel spin-basket reactor.. *Biotechnol. Tech.* 7(11):775-780
- Rehm, G. Reed & J. F. Kennedy (Eds.), *Biotechnology. Vol. 7a. Enzyme Technology.* VCH Weinheim. p. 347

Tiempo	Proteína (mg/ml)	Proteína total (mg)	Proteína en solución	Inmovilización (%)
0.0	1.89	94.5	100	0.0
0.5	0.637	31.85	33	67
20	0.366	18.3	19.4	81
21	0.287	14.36	15.2	85