

# INSTALACIÓN Y OPERACIÓN DE UN REACTOR ENZIMÁTICO ACOPLADO A UN MÓDULO DE ULTRAFILTRACIÓN PARA LA HIDRÓLISIS DE PROTEÍNA DE PESCADO

Romero L., Favela E., Huerta S., Prado A. Universidad Autónoma Metropolitana. San Rafael Atlixco 186, Col. Vicentina. México, D.F. C.P. 09340 E-mail lapb@xanum.uam.mx. Fax 58044712

Palabras clave: Hidrólisis enzimática, reactor enzimático, ultrafiltración.

**Introducción.** Los biorreactores de membrana están formados por un tanque acoplado a un módulo de ultrafiltración (UF), en ellos se puede realizar hidrólisis enzimática de proteínas en forma continua con recuperación de la enzima (1). Sin embargo se ha observado que la pérdida de actividad enzimática es uno de los mayores problemas que afectan a la operación de estos sistemas que puede deberse a factores cinéticos (pH, temperatura, concentración de sustrato y de la enzima) de la preparación enzimática y parámetros hidrodinámicos (presión transmembrana, velocidad de flujo y desnaturalización mecánica debida a la circulación por el sistema) (2).

El objetivo de este trabajo fue determinar las condiciones de operación para un proceso de producción y separación simultánea con la recuperación de la enzima en un reactor enzimático acoplado a un módulo de ultrafiltración para la hidrólisis de proteína de pescado.

**Metodología.** Las constantes cinéticas ( $K_m$  y  $V_{max}$ ) se determinaron por el porcentaje de grado de hidrólisis (%GH) con la técnica reportada por Baek y col. (3) a diferentes concentraciones de proteína de carpa dorada (*Carassius auratus*) y empleando una proteasa comercial Flavourzyme™ (Novozyme) en un reactor operado por lote a 35°C y pH 7.0. Se empleó un módulo de ultrafiltración (UF) de placa y marco (Millipore) con membranas de polisulfona de NMWCO 30 KDa en el cual se realizaron los siguientes estudios: Estabilidad enzimática. Se preparó una solución de Flavourzyme™ (0.14 mg/mL) a pH 7, se recirculó en el UF a 35, 45 y 55°C por 6 horas durante las cuales se midió la actividad proteolítica mediante la técnica reportada por Chefel y col (4). El flux de filtración se determinó en función de la presión transmembrana variando la concentración de proteína de pescado (1.5, 2.5 4 y 7.5mg/mL). Para el acoplamiento del sistema (Fig. 1) se utilizó un reactor (*Eseve*) de 1L. Se estableció inicialmente un volumen de trabajo de 850 mL de suspensión de pescado (7.5 mg/mL de proteína) y una concentración enzimática de 0.14mg/mL. La variación en el tamaño de sólidos suspendidos se midió en un analizador de tamaño de partícula y gota (Malvern series 2600). La distribución de pesos moleculares de los hidrolizados se determinó mediante una cromatografía de permeación en gel (Shepadex G-50).

**Resultados y Discusiones.** Se obtuvo un valor de  $K_m=24.8$  mg/mL y  $V_{max}= 2.5$  mg/mL. Se observó que Flavourzyme™ fue estable a 35°C durante 6 horas en el UF, sin embargo a 45 y 55°C su actividad caía más del 50% durante la primera hora. El flux de filtración en función del gradiente de presión transmembrana se logró predecir mediante el modelo de capa gel ( $J = 0.047 \ln 9.03/C_B$ ) que se obtuvo en este trabajo. Al acoplar el sistema se obtuvieron los resultados mostrados en la tabla 1. El flujo de filtración obtenido fue de 2.1 mL/min que se mantuvo constante durante 6 horas de operación continua con un gradiente de presión transmembrana de 15 psi. No se observó pérdida de actividad enzimática de Flavourzyme™

durante las 6 horas de hidrólisis en el sistema acoplado. El volumen de filtración fue de 750mL con fracciones de pesos moleculares alrededor de 1.5 KDa.

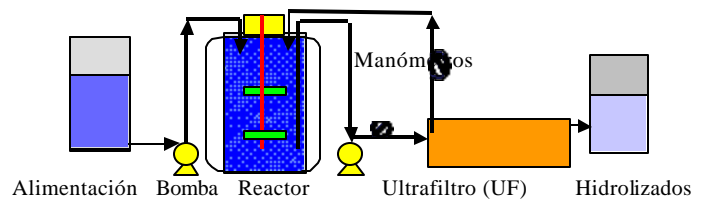


Fig. 1. Diagrama de la instalación del reactor enzimático acoplado al UF.

Tabla 1. Resultados de la hidrólisis enzimática de pescado en el sistema acoplado.

Tiempo (h)	0	1	2	3	4	5	6
%GH	0	6.25	7.14	7.51	7.66	7.94	7.77
*T.S.S (µm)	59.16	34.23	15.04	9.46	2.67	2.43	2.47

\*Tamaño de sólidos suspendidos.

**Conclusiones.** Se logró el acoplamiento del reactor enzimático al UF mediante el estudio por separado de las unidades. Los parámetros como temperatura, flux de filtración, concentración de proteína de pescado encontrados permitieron la obtención de fracciones de hidrolizados cuyos pesos moleculares oscilan en 1.5 KDa. Al no observarse pérdida de actividad enzimática durante las 6 horas de operación del proceso permite la prolongación del mismo. La disminución en el tamaño de partícula retarda la formación de la concentración de la polarización lo que permitió que el flux se mantuviera constante.

**Agradecimientos.** Al CRTP, Unidad Tamaulipas. Novozyme de México. CONACyT.

## Bibliografía.

1. Prazeres, D.M.F. & Cabral, J.M.S. 1994. Enzymatics bioreactors and their applications. *Enzyme Microb Techn.* 16: 738-750.
2. Carvalho, C.M.L, Aire-Barros, M.R. & Cabral, J.M.S. 2001. A continuous membrane bioreactor for ester synthesis in organic media. *Biotechn and Bioeng.* 72:2:136-143.
3. Baek, H.H. & Cadwaller, R.K. 1995. Enzymatic Hydrolysis of crayfish processing by products. *J. Food Sc.* 60: 5: 929-935.
4. Chefel, C. Ahrem, Wang, D.I.C & Tannenbaum, S.R. 1971. Enzymatic solubilization of fish protein concentrate: Batch studies applicable to continuous enzyme recycling process. *J. Agr. Food Chem.* 19: 155-161.