

Efecto de la reutilización de glucosa isomerasa inmovilizada en alginato de calcio sobre la producción de fructosa en un reactor de lecho fluidificado a diferentes regímenes de flujos

J.A. Valenzuela-Lagarda, J.J. Caro-Corrales, O.M. Hernández-Calderón, R. Gutiérrez-Dorado, M.C. Carrasco-Escalante, E.Y. Rios-Iribe.

Posgrado en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Autónoma de Sinaloa. Av. de las Américas s/n, Ciudad Universitaria. Culiacán Sinaloa. jlagarda.fcqb@uas.edu.mx

RESUMEN: Para el diseño de un sistema de biorreacción no es suficiente con conocer los parámetros cinéticos, también es necesario conocer su comportamiento hidrodinámico y los fenómenos de transferencia de masa que ocurren en su interior, debido a que la cinética de reacción depende fuertemente de los fenómenos de transporte de masa, mismos que son regulados por la hidrodinámica del proceso. Por tanto, en este trabajo se evalúa el efecto que ejerce el caudal de flujo sobre la cinética de isomerización de glucosa a fructosa en un reactor de lecho fluidificado mediante la enzima glucosa isomerasa inmovilizada en alginato de calcio. Los porcentajes de conversión a las 4 h de reacción fueron 12.8, 15.1 y 14.4 para 350, 200 y 100 mL/min de caudal, respectivamente. La velocidad de producción de fructosa está influenciada por la altura de la cama de perlas de glucosa isomerasa. En las condiciones de proceso de este trabajo, se encontraron alturas de lecho similares para los distintos caudales empleados en la fluidificación de la cama de perlas, fenómeno que explica la similitud entre los porcentajes de fructosa producidos a los distintos caudales de fluidificación.

Palabras clave: Glucosa isomerasa, lecho fluidificado, alginato de calcio.

ABSTRACT: For the design of a bioreaction system it is not enough to know the kinetic parameters, it is also necessary to know its hydrodynamic behavior and the phenomena of mass transfer that occur inside it. The reaction kinetics depends strongly on the of mass transport phenomena, which are regulated by the hydrodynamics of the process. Therefore, in this work, the effect exerted by the flow rate on the kinetics of isomerization of glucose to fructose in a fluidized bed reactor by means of the enzyme glucose isomerase, immobilized in calcium alginate, is evaluated. The conversion percentages at 4 h of reaction were 12.8, 15.1, and 14.4 for 350, 200, and 100 mL/min flow, respectively. The rate of fructose production is influenced by the height of the glucose isomerase pearl bed. In the process conditions of this work, similar bed heights were found for the different flow rates used in the fluidization of the pearl bed, a phenomenon that explains the similarity between the percentages of fructose produced at the different flow rates.

Key words: Glucose isomerase, fluidized bed, calcium alginate.

Área: Otros

INTRODUCCIÓN

La fructosa es un monosacárido empleado como edulcorante en la industria alimentaria, su fórmula química es idéntica a la de la glucosa ($C_6H_{12}O_6$). El consumo de fructosa se ha incrementado en los últimos años, llegando a reemplazar a la sacarosa en diversas aplicaciones industriales. La isomerización de glucosa a fructosa es una reacción reversible catalizada por la enzima glucosa isomerasa, cuya viabilidad económica del proceso se debe en gran medida al uso de la enzima en forma inmovilizada. Los alginatos son uno de los polímeros utilizados con más frecuencia para inmovilizar glucosa isomerasa debido a sus propiedades gelificantes y su no toxicidad. Actualmente, la producción de fructosa se realiza empleando la enzima inmovilizada en reactores de lecho fijo, mientras que los de lecho fluidificado se emplean con mucha menos frecuencia (Iborra y col 2013), siendo estos últimos una alternativa prometedora de nuevas configuraciones de biorreacción que son capaces de favorecer la bioconversión, al mismo tiempo que minimizan el requerimiento energético de las condiciones de proceso (Ching y Chu 1988). Para el diseño de un sistema de biorreacción no es suficiente con

conocer los parámetros cinéticos, también es necesario conocer su comportamiento hidrodinámico y los fenómenos de transferencia de masa que ocurren en su interior (Cabral y col 1995), debido a que la cinética de reacción depende fuertemente de los fenómenos de transporte de masa, mismos que son regulados por la hidrodinámica del proceso. Por tanto, es necesario realizar un estudio del efecto de las condiciones de operación sobre la bioconversión de glucosa a fructosa en un sistema de biorreacción. En el presente trabajo, se evalúa el efecto que ejerce el caudal de flujo sobre la cinética de isomerización de glucosa a fructosa en un reactor de lecho fluidificado mediante la enzima glucosa isomerasa inmovilizada en alginato de calcio, empleando caudales de 350, 200 y 100 mL/min de flujo. Los tratamientos se llevaron a cabo a 74 °C, empleando 2.5 g de enzima para isomerizar 2.5 L de una solución 0.55 M de glucosa, pH = 8.8. Los porcentajes de conversión a las 4 h de reacción fueron 12.8, 15.1 y 14.4 para 350, 200 y 100 mL/min de caudal, respectivamente. La velocidad de producción de fructosa está influenciada por la altura de la cama de perlas de glucosa isomerasa. Las perlas catalíticas perdieron estabilidad estructural mediante el transcurso del proceso generando cambios en sus propiedades físicas que provocaron un aumento de la altura de fluidificación a medida se utilizaban. Por tanto, la altura de lecho está definida por un equilibrio entre la masa de la perla y la fuerza de arrastre que el fluido ejerce sobre ella, siendo la densidad de la perla función de su estructura composicional. En este trabajo, se presenta el efecto del régimen de flujo sobre la producción de fructosa, encontrándose durante el proceso de fluidificación, cinéticas de producción de fructosa y dinámicas de expansión del lecho fluidificado muy similares.

MATERIALES Y MÉTODOS

Reactivos. Los reactivos utilizados se adquirieron en la empresa Sigma-Aldrich: glucosa isomerasa (EC 5.3.1.5), glucosa ($C_6H_{12}O_6$), fructosa, sulfato de magnesio heptahidratado ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$), sulfito de sodio (Na_2SO_3), ácido sulfúrico (H_2SO_4), alginato de sodio ($C_6H_7O_6Na$), cloruro de calcio ($CaCl_2$) y cloruro de sodio ($NaCl$).

Reactor de lecho fluidificado. Se utilizó un reactor de lecho fluidificado que consta de un tubo cilíndrico de vidrio de borosilicato con diámetro interno y longitud de 4 y 76 cm, respectivamente, que posee una chaqueta que se utiliza para controlar la temperatura de interés mediante agua caliente. En el interior se lleva a cabo la biocatálisis de conversión de glucosa a fructosa al entrar en contacto la enzima inmovilizada y la corriente de la solución del sustrato. La fluidificación de la cama de perlas biocatalíticas se logró bombeando la solución de glucosa con una bomba de 15 W a través del cilindro interno del reactor. Debido a que el tiempo de residencia del sistema de biorreacción es bajo, el equipo experimental contó con un depósito de recirculación, el cual contiene la solución inicial de glucosa, misma que fue bombeada a la columna para posteriormente ser retornada al depósito de recirculación (**Figura 1**).

Inmovilización de glucosa isomerasa. Para el procedimiento de inmovilización de la enzima en perlas de alginato de calcio, se utilizó la metodología reportada por Tumoruk y col.

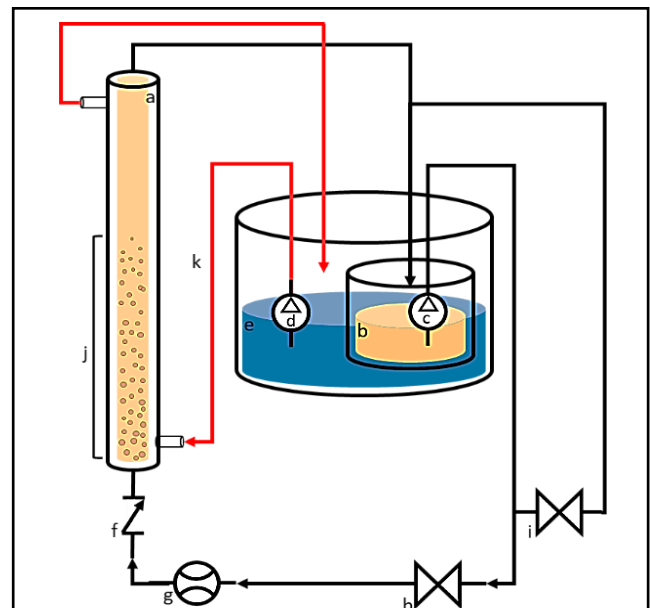


Figura 1. Esquema del sistema de biorreacción en lecho fluidificado. Se muestran los componentes básicos del montaje: **a)** reactor tubular con chaqueta **b)** depósito de recirculación de solución de glucosa **c)** bomba hidráulica para caudal de flujo **d)** bomba hidráulica para chaqueta para calentamiento **e)** baño de agua a la temperatura de interés **f)** válvula check **g)** caudalímetro **h)** válvula reguladora de caudal de flujo **i)** válvula reguladora de recirculación **j)** altura de la cama de perlas catalíticas.

(2007). Se añadieron 2.5 g de glucosa isomerasa soluble a una solución de alginato de sodio (175 mL, 2% p/v), se agitó suavemente y luego se agregó gota a gota esta mezcla a una solución de CaCl_2 (0.3 M). Las perlas biocatalíticas formadas se mantuvieron en una solución diluida de CaCl_2 (0.03 M) durante 1 día a 4 °C. Se almacenaron a 4 °C. El diámetro de las perlas se determinó mediante el uso de un estereoscopio (Motic, SMZ, EUA).

Estudio del efecto del caudal de flujo sobre la bioconversión de glucosa a fructosa. Las perlas de alginato de calcio con glucosa isomerasa (2.5 g de enzima en 175 mL de alginato al 2 % p/v) del mismo diámetro se colocaron dentro del biorreactor. La temperatura del depósito fue controlada mediante agua a 74 °C. Se tomaron periódicamente muestras del depósito de recirculación con la finalidad de cuantificar el contenido de glucosa y fructosa y así establecer el avance de la reacción. La cuantificación de fructosa se realizó mediante un equipo refractómetro-polarímetro (Atago, Re-Po 2, EUA) que determina la cantidad de fructosa (%) presente en una solución de glucosa-fructosa. El caudal se monitoreó mediante un sensor de flujo de agua de efecto Hall (Sea, YF-S104, EUA) y una placa electrónica (Arduino, UNO R3, EUA) programada para registrar el flujo volumétrico de la solución de sustrato a través de la cama de perlas catalíticas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la **Figura 2** se muestra la comparación entre las conversiones de glucosa a fructosa empleando caudales volumétricos de 350, 200 y 100 mL/min. Los tratamientos se llevaron a cabo a 74 °C, empleando 2.5 g de enzima para isomerizar 2.5 L de una solución 0.55 M de glucosa. Los porcentajes de conversión a un tiempo de 4 h fueron 12.8, 15.1 y 14.4 para 350, 200 y 100 mL/min de caudal, respectivamente. En la **Figura 3** se muestra el efecto que ejerce la altura del lecho fluidificado a 350 mL/min de perlas catalíticas sobre la conversión de glucosa a fructosa. La cinética de bioconversión mostrada genera una línea de tendencia con 3 segmentos de diferentes pendiente que representan distintas velocidades de producción de fructosa. Las secciones van desde 0 a 0.5, 0.5 a 2 y 2 a 4 h, y muestran una tendencia de disminución de la velocidad de conversión. En la línea continua se observa la historia de expansión del lecho fluidificado, la altura del lecho

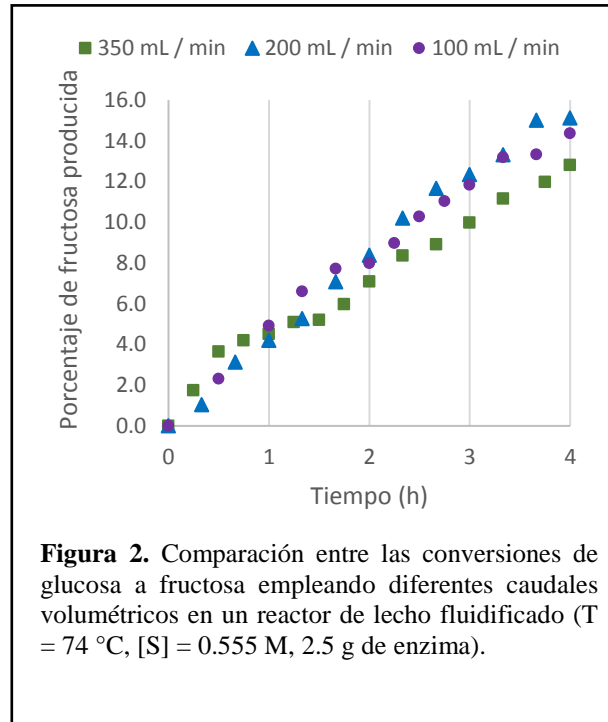


Figura 2. Comparación entre las conversiones de glucosa a fructosa empleando diferentes caudales volumétricos en un reactor de lecho fluidificado (T = 74 °C, [S] = 0.555 M, 2.5 g de enzima).

aumentó a medida que el proceso avanzó, desde 44 hasta 58 cm. Conforme el proceso avanza, la temperatura y el flujo generan daño estructural sobre las perlas de alginato de calcio, produciendo cambios en sus propiedades físicas y con esto un aumento en la expansión de la cama de perlas catalíticas, fenómeno que se asocia a una disminución de la velocidad de producción de fructosa. En la **Figura 4** se aprecia la influencia de la altura de la cama de perlas catalíticas con un caudal de 200 mL/min sobre el porcentaje de fructosa producida. Este tratamiento se realizó posterior al de 350 mL/min, por lo que las perlas ya presentaban daño estructural, generando expansiones similares en ambos casos, a pesar de las diferencias en el caudal empleado. En la **Figura 5** se observa el efecto que ejerce la altura del lecho generada por la fluidificación a 100 mL/min sobre la cinética de conversión de glucosa a fructosa. En este tratamiento, las perlas tenían daño estructural avanzado, y mostraron un comportamiento diferente en cuanto a su fluidificación, alcanzando un máximo de 65 cm alrededor de la primera hora de proceso, para después disminuir hasta 52 cm. Al final de este tratamiento, las perlas tenían tanto daño estructural que no era posible reutilizarlas. En la **Figura 6** se muestra la historia de expansión del lecho durante la vida útil de las perlas. La altura del lecho fluidificado mostró una tendencia a aumentar, alcanzar un punto máximo y después disminuir para posteriormente dejar de ser reutilizable. Existe una relación directa entre el flujo bombeado al reactor y la altura de fluidificación del lecho, sin

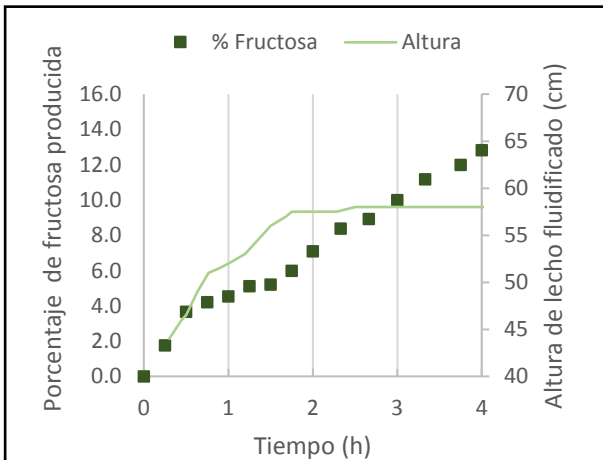


Figura 3. Efecto de la altura de lecho a 350 mL/min sobre la producción de fructosa en un reactor de lecho fluidificado a diferentes regímenes de flujo (T = 74 °C, [S] = 0.555 M, 2.5 g de enzima).

embargo, también el tiempo de reacción ejerce influencia positiva sobre la altura de levantamiento de

la cama de perlas catalíticas. Así, la expansión del lecho fluidificado está influenciada por la suma de los efectos de caudal de fluidificación y tiempo de uso de las perlas catalíticas. Esto explica la similitud de las expansiones presentadas en los distintos caudales de flujo. El aumento en la expansión del lecho a flujos constantes a través del tiempo ejerce una influencia negativa sobre la velocidad de producción de fructosa. Esto permite entender y explicar que se obtengan conversiones de glucosa a fructosa similares a diferentes caudales de flujo como se observó en los experimentos realizados en este trabajo, bajo las condiciones de estudio.

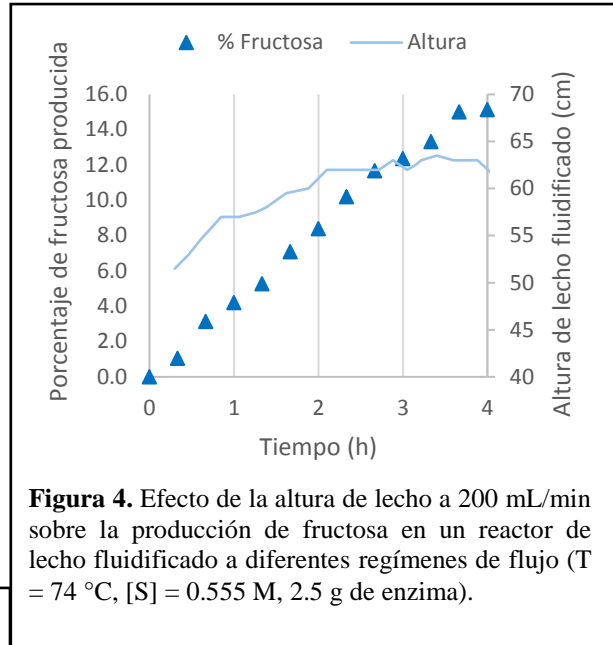


Figura 4. Efecto de la altura de lecho a 200 mL/min sobre la producción de fructosa en un reactor de lecho fluidificado a diferentes regímenes de flujo ($T = 74\text{ }^{\circ}\text{C}$, $[S] = 0.555\text{ M}$, 2.5 g de enzima).

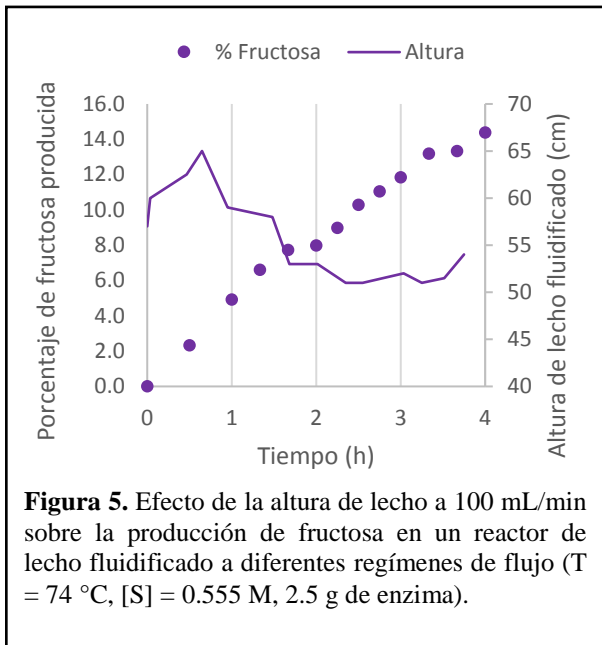


Figura 5. Efecto de la altura de lecho a 100 mL/min sobre la producción de fructosa en un reactor de lecho fluidificado a diferentes regímenes de flujo ($T = 74\text{ }^{\circ}\text{C}$, $[S] = 0.555\text{ M}$, 2.5 g de enzima).

BIBLIOGRAFÍA

- Iborra, M., Tejero, J., y Cunil, F. 2013. Reactores catalíticos de lecho fluidizado en *Reactores multifásicos apuntes*. M. Iborra, J. Tejero, F. Cunil. (págs. 55-81) Barcelona: Universitat de barcelona.
- Ching, C. B., y Chu, K. H. 1988. Modelling of a fixed bed and a fluidized bed immobilized enzyme reactor. *Applied Microbiology Biotechnology*. 316-322.
- Cabral, A. K. A., Zaiat, M., y Foresti, E. 1995. Caracterizayao Hidrodinamica de um Reator Anaeróbio Horizontal de Leito Fixo (RAHLF). XXIII Congresso Brasileiro de sistemas Particulados. *Universidade Estadual de Maringá*. 23-30.
- Tumturk, H., Demirel, G., Altinok, H., Aksoy,, S. y Hasirci, N. 2008. Immobilization of glucose isomerase in surface-modified alginate gel beads. *Journal of Food Biochemistry*. 32: 234-246.

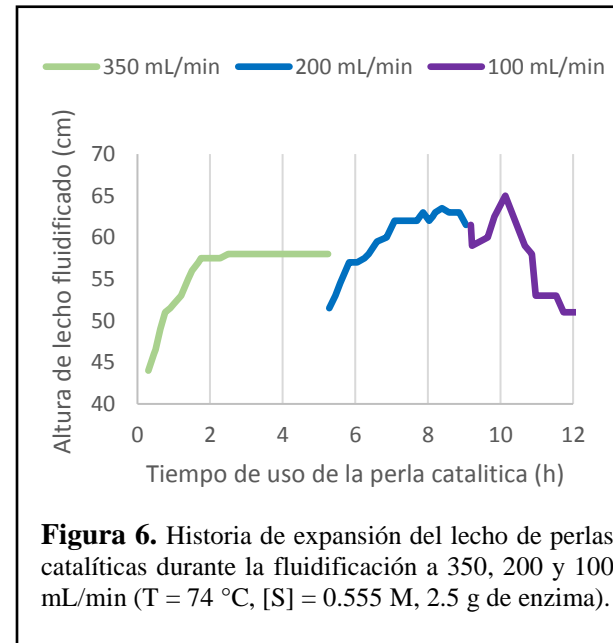


Figura 6. Historia de expansión del lecho de perlas catalíticas durante la fluidificación a 350, 200 y 100 mL/min ($T = 74\text{ }^{\circ}\text{C}$, $[S] = 0.555\text{ M}$, 2.5 g de enzima).