

COMPLEJO ENZIMATICO PARA HIDROLISIS DE DESCARNE

DESCRIPCIÓN

5

CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a la identificación de un grupo de enzimas que en su conjunto permiten hidrolizar el descarnado en los procesos de curtido y con ello reducir el impacto de residuos peligrosos, generando proteína de colágeno.

10

ANTECEDENTES

15

La industria del curtido en la ciudad de León Guanajuato, es una industria de alto impacto económico y comercial, con una gran producción de cueros curtidos al año debido a su alta demanda. Esta actividad industrial tiene como actividad principal la producción de cueros generando diversos residuos, los cuales son conocidos como "*descarnes*".

20

El descarnado es la sección de la endodermis de la piel de ganado de res. Esta tiene una estructura biológica compuesta de 50-60% de humedad, 30-40% de grasa y 10-12% de proteínas. El descarnado es así un gran complejo de diferentes moléculas orgánicas, las cuales son básicamente, tejido adiposo, ácidos grasos, proteínas, carbohidratos, agua y minerales.

25

Los residuos llamados "*descarnes*" son principalmente de dos tipos: descarnado crudo y descarnado sulfurado. El descarnado crudo proviene del proceso de descarnado del

cuero verde salado, en tanto que el descarnado sulfurado proviene del proceso de pelambre. En la actualidad existen empresas informales que realizan el tratamiento de los descarnados, de manera artesanal y rudimentaria.

5 El proceso rudimentario consiste en colocar el residuo recuperado en recipientes o tanques, donde posteriormente se agrega agua y ácido sulfúrico del 4 al 6% y se calienta hasta temperaturas de 80°C. En este proceso se recupera la grasa de res, con residuos de ácido sulfúrico, mientras que la proteína de colágeno no se recupera con este proceso.

10

Los residuos secundarios que generan estos negocios informales son aún más peligrosos que el residuo original en sí, ya que éstos contienen residuos proteicos impregnados de ácido sulfúrico, además del agua ácida que se descarga a los ríos y drenajes, como resultado de la hidrólisis ácida. Por lo que el mal manejo de estos
15 residuos es considerado como un grave problema ambiental en aire, suelo y agua. En el aire por ejemplo, se tienen gases de efecto invernadero, con metano y dióxido de carbono.

20

Los lugares donde se concentran los descarnados son conocidos como "sebaderos" y su tratamiento ha sido por mucho tiempo un reto tecnológico.

Como solución al mismo se tienen algunas técnicas modernas, como la biotecnológica en la que el tratamiento de estos residuos se hace mediante enzimas, recuperando grasa animal, proteína de colágeno y elastina.

En la patente GB1535637 por ejemplo, se utilizaron enzimas proteolíticas de origen bacteriano para realizar la hidrólisis de residuos de cuero y piel y recuperar colágeno, a un pH neutro o alcalino con enzimas de microorganismos como *Bacillus licheniformis*, *Bacillus alcalophilus*, *Bacillus cereus* y *Bacillus mycoides*. En la
5 patente US2014/0154750 A1 se utiliza una proteasa proveniente del *Bacillus Subtilis*, para la obtención de la glucosa a partir de la hidrólisis de celulosa.

En nuestra invención se formuló un complejo enzimático, compuesto por tres
10 enzimas proteolíticas, con actividad complementaria, por lo que los resultados de la hidrólisis son mucho más eficientes, mayores rangos de operación y óptimo rendimiento.

Para resolver el problema encontrado en los sebaderos nos dimos a la tarea de
15 desarrollar un nuevo proceso para el tratamiento de estos residuos, debido al impacto ambiental que estos están causando al medio ambiente, logrando que la aplicación del complejo enzimático realizara la hidrólisis de este residuo, dando como resultado la obtención de grasa inalterada y proteína de colágeno de alto valor agregado.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

20 La invención trata de una formulación de una mezcla de enzimas que forman un complejo enzimático, llamado COMPLEXZYM, el cual funciona hidrolizando los descarnes descritos, de una manera más eficiente y con mayor velocidad, en

condiciones constantes de reacción. El complejo enzimático está compuesto por 3 enzimas proteolíticas específicas: una enzima pancreática como la pancreatina, proteasa alcalina y queratinasa.

5 Tabla 1. Composición del complejo enzimático

Enzima	Características	Concentración en la composición
Pancreatina	Enzima Proteolítica proveniente de páncreas de res	20 %
Proteasa alcalina	Enzima proteolítica producida por <i>Bacillus subtilis</i> , alcalina	70 %
Queratinasa	Enzima proteolítica proveniente de <i>Streptomyces Fradiae</i>	10 %

10 La pancreatina es a su vez un complejo enzimático de origen animal. Se compone de dos enzimas que se extraen del páncreas de res: tripsina y quimotripsina. Estas enzimas actúan perfectamente en pH neutro y ligeramente alcalino. La tripsina actúa sobre los enlaces arginil de las cadenas peptídicas e hidroliza ésteres de geometría plana, mientras que la quimotripsina rompe los enlaces amídicos secundarios o enlaces peptídicos, enlaces carboxílicos o de ésteres fenólicos y
15 enlaces carbono de geometría plana.

La quimotripsina es producida en forma de quimotripsinógeno inactivo por las células del páncreas.

20 La segunda enzima proteolítica proviene del *Bacillus Subtilis*. Esta proteasa es una endopeptidasa que actúa hidrolizando los enlaces peptídicos de las proteínas.

Estas pueden ser metaloproteasas, esterasas y serin proteasas. Esta enzima es de alta actividad proteolítica, siendo activa hasta pH 12. Su actividad continúa a altas temperaturas (70-80 °C) y posee puntos isoelectricos extremadamente básicos.

5

Esta enzima fue probada con las mismas condiciones de pH (7 a 12), temperatura (50 a 85 °C) y tiempo de reacción (1 a 6 horas) que la enzima pancreática, para demostrar su efectividad y obtener los resultados previstos en cuanto a la recuperación de prolina e hidroxiprolina y el grado de hidrólisis esperado.

10

La tercera enzima es una queratinasa, la cual proviene de un microorganismo llamada *Streptomyces Fradiae*. Esta enzima tiene acción entre los aminoácidos como la cistina, con mayor efectividad cuando el sustrato ha pasado por un proceso oxidante. La efectividad de esta enzima se beneficia notablemente cuando el sustrato ha sufrido hidrólisis en las cadenas polipeptídicas, proceso que ocurre también con las otras dos enzimas de la fórmula. Esto es, las tres enzimas se complementan en su acción de hidrolizar las cadenas polipeptídicas, rompiendo cada una de ellas enlaces que las otras no pueden.

15

20

Las tres enzimas proteolíticas del complejo propuesto fueron seleccionadas de entre cuarenta enzimas conocidas con actividad similar, determinando su actividad enzimática particular utilizando el método de Löhlein Volhard. También se determinó la efectividad de ellas en la hidrólisis del descarte, a diferentes temperaturas, pH y tiempo de reacción.

Cada tipo de enzima que compone a la fórmula del complejo enzimático tiene una afinidad a cierto tipo de aminoácido que compone la molécula del colágeno. Cada enzima realiza una reacción de hidrólisis en un enlace peptídico de acuerdo a su afinidad.

Los resultados de la concentración de aminoácidos libres y la concentración de prolina e hidroxiprolina, son los indicadores base para conocer la efectividad de la misma en la hidrólisis.

Para complementar los resultados obtenidos con las enzimas anteriores, se evaluó la producción de una enzima, la cual tuviera efectos sobre la queratina. Esta fue evaluada mediante el medio mínimo Czapek Dox, para determinar su efectividad sobre los aminoácidos de la queratina. Mediante esta experimentación, se logró determinar la efectividad que tiene ésta sobre ciertas secciones de la estructura del descarne.

La enzima proteolítica queratinasa proveniente de *Streptomyces Fradiae* no puede actuar por si sola para hidrolizar todo el sustrato (descarne), es necesario proporcionar un pre-tratamiento enzimático previo al descarne para que ésta pueda actuar sobre los aminoácidos deseados.

El sustrato no hidrolizado es normalmente pelo, venas y material biológico de naturaleza más dura y por ende difícil de hidrolizar.

Finalmente con el complejo COMPLEXZYM se tuvo al final el máximo rendimiento del complejo enzimático, entre un 95 y 97% en peso de la hidrólisis del descarte, en las condiciones finales de operación definidas en la siguiente tabla:

5

Tabla 2. Parámetros óptimos de reacción de COMPELXZYM

Parámetro	Condición
pH	7-10
Temperatura	60-65°C
Tiempo de reacción	2-3 Horas
Concentración de enzima Complexzym	1 – 2% en peso

REIVINDICACIONES

Una vez descrita suficientemente nuestra invención, la consideramos como una
5 novedad y reclamamos como de nuestra propiedad lo contenido en las siguientes
clausulas:

1. La formulación de un complejo enzimático basado en la adición de tres enzimas
en una sola fórmula, para la hidrólisis del descarne.
10
2. El complejo reivindicado en 1 en donde además una de las tres enzimas del
complejo es una pancreatina compuesta a su vez de tripsina y quimotripsina y
que constituye el 20% en peso de la formulación total.
- 15 3. El complejo reivindicado en 1 en donde además una de las tres enzimas del
complejo es una enzima proteolítica proveniente del Bacillus Subtilis y que
constituye el 70% en peso de la formulación total.
4. El complejo reivindicado en 1 en donde además una de las tres enzimas del
20 complejo es una queratinasa proveniente del microorganismo conocido como
Streptomices Fradiae y que constituye el 10% en peso de la formulación total.
5. El proceso de hidrólisis de descarne mediante la aplicación del complejo
enzimático COMPLEXZYM en condiciones óptimas de operación en pH,
25 temperatura y tiempo de reacción.

6. El proceso reivindicado en 5 en donde además la hidrólisis del descarte óptima se logra con un pH de 7 a 10.

5 7. El proceso reivindicado en 5 en donde además la hidrólisis del descarte óptima se logra con una temperatura de 60 a 65 °C

8. El proceso reivindicado en 5 en donde además la hidrólisis del descarte óptima se logra con un tiempo de reacción de 2 a 3 horas.

10

RESUMEN

5 Se propone un complejo enzimático para hidrolizar el colágeno del descarte, recuperar la grasa y el colágeno hidrolizado, formado por pancreatina, proteasa alcalina y queratinasa. Este complejo tiene el mejor desempeño en conjunto como fórmula con mayor velocidad de reacción y mayor eficiencia en la hidrolisis, además de proporcionar una mayor resistencia a las condiciones de reacción con lo que la problemática ambiental de los sebaderos podrá solucionarse eficazmente.