



MÉTODO DE LIBERACIÓN DE LA AMILASA ANCLADA A LA CÉLULA DE *Streptococcus infantarius* 25124 AISLADA DEL POZOL

Carolina Rodríguez Saavedra, Romina Rodríguez Sanoja, Ma. Del Carmen Wachter Rodarte y Gloria Díaz Ruiz, Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química, Departamento de Alimentos y Biotecnología, Ciudad de México C.P. 04510 carol_unam10@hotmail.com

Palabras clave: pozol, *Streptococcus infantarius*, bacterias lácticas amilolíticas.

Introducción. El pozol es un alimento fermentado tradicional del Sureste de México que se elabora a partir de masa de maíz nixtamalizado (1, 2). Para que la fermentación espontánea pueda llevarse a cabo se requiere la presencia de bacterias ácido lácticas amilolíticas que permitan la degradación del almidón para dar paso a azúcares más sencillos. El género *Streptococcus* es predominante en la fermentación del pozol. *S. infantarius* 25124 hidroliza el almidón y se ha reportado que su amilasa involucrada está asociada a la célula (3).

El objetivo de este proyecto es encontrar un método adecuado que permita separar la amilasa de las células de *S. infantarius* 25124, para su posterior purificación y caracterización

Metodología. Se obtuvieron cultivos de *S. infantarius* y se cosecharon las células. Se probaron dos metodologías para separar la amilasa: vía un buffer de extracción y una membrana de diálisis y vía un método enzimático-mecánico que involucró el uso de lisozima y una sonda de ultrasonido. El buffer de extracción se dejó actuar sobre las células durante 5 min en baño de agua hirviendo, se recuperó el sobrenadante y se dializó contra agua para llevar a cabo ensayos enzimáticos in vitro y saber si la amilasa se había recuperado. Con el método enzimático-mecánico se separaron los restos celulares y el sonicado. A éste último se le adicionó 50 mM de CaCl_2 y se procedió a realizar un ensayo enzimático con la técnica de extinción del complejo almidón-yodo a todas las fracciones del procedimiento, con el fin de saber en cuál de dichas fracciones se encontraba la amilasa y si se lograba recuperar su actividad. Finalmente se practicó una electroforesis SDS-PAGE (4) a la par de un zimograma.

Resultados. Los resultados del SDS-PAGE y el zimograma muestran que el método enzimático-mecánico fue más eficiente para separar la amilasa de las células de *S. infantarius* 25124 (figura 1). El gel SDS-PAGE permite observar el conjunto de proteínas solubles separadas de la célula por sonicación, mientras que el zimograma permite identificar, dentro de dicho conjunto de proteínas, a la banda correspondiente de la amilasa, misma que se encuentra alrededor de los 250 KDa. De esta forma y realizando ensayos enzimáticos in vitro fue posible corroborar que el método enzimático-mecánico

permitió separar la amilasa y recuperar su actividad, logrando obtener una actividad amilolítica importante

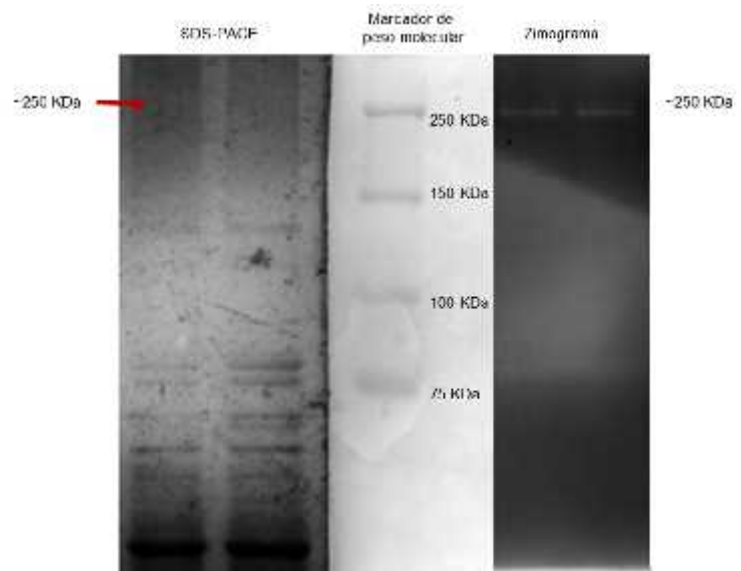


Fig 1. Gel SDS-PAGE y zimograma del sonicado obtenido a partir de células de *S. infantarius* 25124. La muestra se corrió por duplicado tanto en el SDS-PAGE como en el zimograma.

Conclusiones. Los resultados obtenidos indican que el uso de un método enzimático-mecánico es eficiente para separar la amilasa de las células de *S. infantarius* 25124, lo cual permitirá continuar con la purificación y caracterización de esta proteína.

Agradecimiento. Agradecemos a CONACyT por la beca otorgada a estudios de posgrado y al proyecto CONACyT Ciencia Básica 131615.

Bibliografía.

1. Nuraida, Wachter y Owens (1995) *World J Microbiol Biotechnol.* 11: 567-571.
2. Wachter, Cañas, Cook, Barzana y Owens (1993) *World J. Microbiol Biotechnol.* (9): 269-274.
3. Díaz-Ruiz, Guyot, Ruiz-Terán, Morlon-Guyot y Wachter (2003) *AEM.* 69 (8): 4367-4374.
4. Laemmli (1970) *Nature* 227: 680-685.