

## OBTENCIÓN DE $\alpha$ -amilasa A PARTIR DE *Aspergillus oryzae*

Andrea Guadarrama, Juan Orozco, Macario Morales. Facultad de Química, Universidad Autónoma del Estado de México, Paseo Tollocan esq. Paseo Colón S/N, C.P. 50120, Toluca, Estado de México. Tel: (01722) 217 5109, Fax: (01722) 217 3890, e-mail: [jov202001@yahoo.com.mx](mailto:jov202001@yahoo.com.mx)

*Palabras clave:*  $\alpha$ -amilasa, enzima, *Aspergillus oryzae*

**Introducción.** La  $\alpha$ -amilasa (1,4,  $\alpha$ -glucanohidrolasa) es una enzima extracelular que hidroliza los enlaces  $\alpha$  1-4 glicosídicos de polisacáridos, tales como el almidón, glicógeno o productos de degradación de los mismos (1). Tiene una actividad enzimática que oscila entre 53-129 U/L, su peso molecular va de los 40 000 a 50 000 Da, su actividad requiere de la presencia de iones cloruro (2). Esta enzima tiene importancia en la industria alimentaria como en cervecería, dulcería, cereales y panadería, y específicamente en la sacarificación maltogénica (1), sin embargo, su producción es limitada y es un producto de exportación. La  $\alpha$ -amilasa que es producida de manera natural por *Aspergillus oryzae* tiene un peso molecular de  $52 \times 10^3$  (2). Las enzimas de origen microbiano presentan ventajas técnico-económicas: poseen tiempos de generación menores, tienen requerimientos de espacio menor por unidad de enzima producida y una potencialidad ilimitada en cuanto a la disponibilidad de nuevas enzimas (3). Los preparados industriales de enzimas, se caracterizan por la actividad particular de la enzima deseada, por el efecto del pH, temperatura, tiempo de reacción, concentraciones de la enzima y del sustrato, así como el efecto de los inhibidores o activadores, que pueden presentarse en las aplicaciones industriales. La producción de una enzima, incluye dos etapas principales: la fermentación, en la que se multiplica el microorganismo productor de la enzima, y la de recuperación y purificación en la que se aísla la enzima y se lleva al grado de pureza adecuado para su uso. En la industria se utilizan más los preparados enzimáticos, pues la purificación de la enzima podría representar costos adicionales en la producción de alimentos. La calidad de la enzima esta en función de la fermentación, pues esta influye directamente en la coloración, olor y estabilidad de la enzima.

El objetivo del presente trabajo es la obtención de  $\alpha$ -amilasa, a partir del hongo *Aspergillus oryzae*.

**Metodología.** Se aisló e identificó el hongo *Aspergillus oryzae* (figura 1a) a partir de una muestra de suelo. El aislamiento se realizó en medio PDA y la identificación se basó en las características fenotípicas reportadas para esta especie. Posteriormente se realizaron pruebas preliminares para la producción de la enzima, utilizando el medio de cultivo Czapeck modificado (1), adicionando 3% de almidón. El medio de cultivo utilizado en la producción de la enzima, se preparó en base a los requerimientos de producción y estabilidad de la enzima (1), el pH del medio se ajustó a 5.0, suplementado con almidón (2.1%), KCl (0.17 %), MgCl<sub>2</sub> (0.2 %) y aceite de soya (4.89 %) para la producción óptima de la enzima. La fermentación se llevó a cabo durante 6 días a una temperatura de 28°C. Posteriormente se procedió a la separación de la enzima por

medio de una precipitación con sulfato de amonio (4). Finalmente se dializo la enzima cristalizada y se registro la actividad enzimática a diferentes condiciones de temperatura, concentración de sustrato y pH, utilizando un preparado de almidón como sustrato y yodo como indicador.

**Resultados y discusión.** La temperatura, el tiempo de incubación en la producción, cambios de pH, son algunos de los factores determinantes en la actividad y estabilidad de una enzima. La actividad enzimática se observó como parte de la hidrólisis del almidón y físicamente como el cambio de coloración en el medio utilizado.

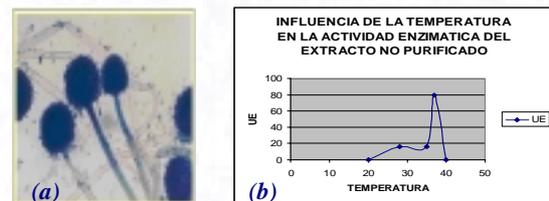


Figura 1. (a) Cepa de *Aspergillus oryzae* (b) Influencia de la temperatura en la actividad enzimática

Se presentó actividad enzimática a temperaturas en el rango de 28 a 37 °C, siendo en esta última donde la actividad fue mayor (figura 1b). El rango de pH del extracto enzimático fue de 4 a 6, presentándose actividad enzimática a pH 4 cuando había 0.5mL del extracto de almidón, y a pH 6 con 1.2 mL del mismo extracto. La actividad enzimática puede permanecer más o menos constante por un lapso de tiempo largo, siempre y cuando exista un agente estabilizador en el medio de producción como lo es el ión cloro. Con lo que respecta al tiempo de acción de la enzima, al parecer hay una relación directamente proporcional entre el tiempo y la actividad enzimática, sin embargo, hay un punto en el que la enzima pierde afinidad por el sustrato, cesando la hidrólisis del almidón por la misma.

**Conclusiones.** Se logró la obtención de  $\alpha$ -amilasa a partir de la fermentación de *Aspergillus oryzae*, así mismo, se determinaron algunas de las condiciones que favorecen la actividad enzimática de la  $\alpha$ -amilasa.

### Bibliografía.

1. Crueger W y Crueger A. (1993) Enzimas. En: *Manual de Microbiología Industrial*. Acribia, España. Pág. 213-245
2. Fogarty, W. (1983) Microbial amylases. En: *Microbial enzymes and biotechnology Applied Science*, Publishers, London. Pág. 1-92, 251.
3. Scriban R. (1985) Producción de enzimas. En: *Biotecnología*, El Manual Moderno. México. Pág. 282-297.
- 4) Dixon M. and Edwin C. (1979) Enzyme isolation. En: *Enzymes*, Brace J., Academic Press, New York. Pág. 23-47.