

# BIOSÍNTESIS DE $\alpha$ -AMILASA EXTRACELULAR A PARTIR DE CEPAS DE BACILLUS SUBTILIS

Renata Grebeshova, Lena Prieto, Sandra Miranda, Natalia Moreno y David Flechas, Facultad de Ingeniería de Alimentos. Universidad De La Salle. Carrera 7 No.172-85. Bogotá D.C. Colombia, Fax: (571) 677-2636. [ialimentos@jupiter.lasalle.edu.co](mailto:ialimentos@jupiter.lasalle.edu.co)

Palabras clave: biosíntesis, inductores, fermentación

**Introducción.** Actualmente la biotecnología desarrolla cada vez más la obtención de enzimas microbianas para su utilización en los procesos industriales de producción de alimentos para la intensificación de procesos tecnológicos y para la obtención de productos de alta calidad y saludables. El objetivo de esta investigación fue estudiar parámetros de fermentación para la obtención de  $\alpha$ -amilasa extracelular de dos cepas de *Bacillus subtilis* que se aplicará en procesamiento de alimentos.

**Metodología.** Se usaron las cepas *Bacillus subtilis* ATCC-21556 (American Type Culture Collection) y *Bacillus subtilis* sp. (de la Universidad de La Salle). Por medio de la técnica de choque térmico con sales minerales y siembras/resiembras en los medios Agar Nutritivo y Agar Luria-Bertrani se obtuvieron cepas estables y activas. Después se emplearon los inductores específicos de biosíntesis: almidones de papa, yuca y arroz. Se determinaron las zonas de hidrólisis del almidón en cajas Petri con tratamiento de Lugol después de crecer las cepas en la incubadora durante 48 horas a 37°C. Además se estudió el proceso de biosíntesis de  $\alpha$ -amilasa de las cepas *Bacillus* con la técnica de fermentación sumergida en agitador orbital (marca Heidolph).

En los experimentos se usaron los medios de cultivo de López y de Nomura, los cuales son fuentes de carbohidratos, sales minerales y extracto de levadura. A cada erlenmeyer se agregaron 50mL de medio a un pH de 6.5. Los medios de cultivo se esterilizaron en autoclave a 121°C durante 15 min.. Después de enfriar los erlenmeyers a 37°C se inocularon con esporas de *Bacillus subtilis* ATCC y con *Bacillus subtilis* sp. (10mL de suspensión con  $1 \times 10^8$  esporas). Los parámetros de fermentación son los siguientes: Temperatura: 37°C, tiempo: 48 horas, velocidad de agitación: 170 rev/min. Al final de la fermentación se determinó el pH, la biomasa y la Actividad Amilolítica (AA) con la técnica de Climosky.

**Resultados y discusión.** El *Bacillus subtilis* ATCC creció en el medio de cultivo López con 5% de almidón, produciendo 1g/mL de biomasa y con AA de 29.9U/mL. El *Bacillus subtilis* sp. creció en el medio de cultivo Nomura produciendo 5g/mL y una AA de 12U/100mL, mientras que el *Bacillus subtilis* ATCC produjo 2.5 g/mL de biomasa. y una AA de 11.9U/100 mL. Los resultados se muestran en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Actividad Amilolítica de las cepas *Bacillus subtilis* ATCC y *Bacillus subtilis* sp. empleando medios de cultivo López y Nomura.

Medio de Cultivo	Cepas	Biomasa (g/mL)	Tiempo de amilólisis	A.A (U/100mL)
López	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC	1	2.3 min	29.9
Nomura	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC	2.5	5.3 min	11.9
	<i>Bacillus subtilis</i> sp. La Salle	5	5 min	12.0

**Conclusiones.** A partir de las cepas *Bacillus subtilis* ATCC y *Bacillus subtilis* sp., sometidas a la acción de inductores específicos, se obtuvo un nivel mayor de biosíntesis de  $\alpha$ -amilasa extracelular. Estas cepas crecieron en los medios de cultivo de López y de Nomura en fermentaciones sumergidas con agitador orbital, logrando niveles de actividad amilolítica entre 11.9 y 29.9U/100mL.

**Agradecimientos.** Departamento de Investigaciones; Dr. Camilo Roza, Decano de la Facultad de Ingeniería de Alimentos; Carolina Echeverry, Laboratorio de Microbiología y Planta Piloto de Ingeniería de Alimentos de la Universidad de La Salle por la colaboración durante el desarrollo de la investigación.

## Bibliografía.

Fogarty, W, and Kelly, C. (1982). Microbial enzymes and biotechnology. Applied Science. London. 131-182.  
Wiseman A. Manual de Biotecnología de Enzimas. Ed. Acribia, Zaragoza. (1991).  
Grebeshova R, Salcedo L, Castellanos O. (1998). Estudios de las propiedades catalíticas de las proteasas *Bacillus subtilis*. Revista Colombiana de Biotecnología, Vol. 1, N°1. 57-62.  
Gracheva I, (1982) Práctica de Tecnología de Enzimas. La industria liviana y de alimentos. Moscú (traducción)