

LA ENZIMA α -AMILASA EN LA INDUSTRIA.

NUEVAS APLICACIONES BASADAS EN LA RELACION ESTRUCTURA-FUNCION.

Saab-Rincón G., Del Rio G., Rivera M., Santamaría R.I., Diaz M.L. Soberón X. y López-Munguía Agustín

¹ Departamento de Bioingeniería, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México

Apdo. Postal 510-3, Cuernavaca, 62271, Morelos, MEXICO. Fax: (52-73) 172388, e-mail: agustin@ibt.unam.mx

Introducción. El almidón es hoy en día la principal fuente de carbono renovable disponible para la elaboración de productos mediante procesos fermentativos y/o enzimáticos. Anualmente son extraídas y transformadas millones de toneladas en productos tales como dextrinas, ciclodextrinas o glucosa, esta última isomerizada posteriormente a fructosa. De acuerdo con la FAO y el "Tropical Development Research Institute" de Inglaterra, en 1998 de 604 millones de toneladas de maíz producidas, correspondientes a 6% de la producción mundial, se extrajeron 35 millones de toneladas de almidón, con las cuales sólo en los EUA fueron producidos 8 millones de toneladas de jarabes fructosados y 3.5 millones de toneladas de glucosa. Las aplicaciones del almidón en el futuro y la modernización de sus aplicaciones actuales resultarán sin duda de la capacidad para modificar su estructura, desarrollando y mejorando los procesos de transformación para la obtención de nuevos e interesantes productos. En este sentido, uno de los principales ejes de desarrollo lo constituye la posibilidad que ofrece la biocatálisis para obtener enzimas con nuevas propiedades o con propiedades mejoradas de acuerdo con las necesidades del proceso o del producto. Así por ejemplo, enzimas obtenidas mediante técnicas de ingeniería genética han permitido mejorar la conversión de glucosa en fructosa, o incluso producir a nivel industrial las ciclodextrinas, haciendo disponibles las CGTasas. De hecho, el mayor mercado para las enzimas en la industria alimentaria lo constituye la transformación del almidón mediante el uso de α -amilasa, glucoamilasa y glucosa isomerasa. En su conjunto, estas tres enzimas tienen ventas anuales de unos 156 millones de dólares. Paralelamente, existe una creciente demanda por productos tales como los jarabes de maltosa, las maltodextrinas o los maltooligosacáridos, que sin duda alguna serán importantes ingredientes de la industria alimentaria y materia prima de diversos procesos en el futuro cercano.

En la transformación del almidón, la α -amilasa licuefactante de *B. licheniformis*, así como las amilasas fungales sacarificantes son las más empleadas. Se han descubierto nuevas enzimas amilolíticas, particularmente en ambientes hipertermofílicos, sin embargo, el descubrimiento de nuevas propiedades y nuevas aplicaciones se han derivado de los avances en el conocimiento de la relación estructura-función en las enzimas existentes. En la presente conferencia se discuten algunos aspectos de interés relacionados con la estructura de las amilasas, así como aplicaciones derivadas de dicho conocimiento.

Estructura de las amilasas. Al comparar la estructura de más de 100 genes que codifican para enzimas de la familia de las amilasas, se ha observado que existen cuatro regiones ampliamente conservadas, donde se ubican las regiones de catálisis y de unión al sustrato. Se muestran los resultados del análisis de la estructura cristalina del barril $(\alpha/\beta)_8$ así como la

ubicación del sitio. De igual forma se revisarán los elementos estructurales relacionados con la especificidad de estas enzimas hacia cierto tipo de productos y su clasificación como licuefactantes y sacarificantes.

Combinación de las actividades hidrolasa y transferasa. Se ha propuesto que la actividad transferasa pudiera haber evolucionado de un ancestro hidrolítico. Basados en esta hipótesis, exploramos la idea de combinar la actividad amilasa licuefactante (hidrolítica) con la actividad transferasa de la CGTasa. Los resultados demuestran que mediante esta combinación es posible hacer más eficiente la transformación de almidón en azúcares de bajo peso molecular. La forma de llevar a cabo esta combinación y sus aplicaciones prácticas serán presentadas en esta conferencia.

Mejoras en la actividad transferasa de la α -amilasa mediante ingeniería de proteínas. Mutaciones sitio-dirigidas en la estructura de la α -amilasa nos han permitido incrementar su capacidad para llevar a cabo reacciones de transferencia con la enzima de *B. stearothermophilus* y recientemente con *B. licheniformis*. Se mutó el residuo Ala 289 de la primera por Tyr y Phe, demostrando las nuevas propiedades de la enzima. De igual forma las mutantes V286Y y Y56F de la segunda serán analizadas en la conferencia, por su capacidad para llevar a cabo reacciones de transferencia de forma más eficiente.

Síntesis de Tensoactivos. Los alquilpoliglucósidos representan una nueva categoría de surfactantes que cumplen con los requisitos de la industria alimentaria moderna. Se analizará el tipo de productos que es posible obtener mediante reacciones de transferencia (alcohólisis) con sustratos tales como el metanol, el butanol y el hexanol.

La industria de la tortilla. La industria de la tortilla representa un mercado con ventas anuales de 4 billones de dólares, y su importancia e impacto en la cultura y la dieta nacional no tiene comparación con ningún otro alimento. El uso de amilasas no ha llegado aún a consolidarse en el proceso de nixtamalización, pero representa una alternativa viable de conservación de sus propiedades, evitando el uso de aditivos relacionados con el proceso. Se responderá a la pregunta sobre ¿cuáles serían las propiedades óptimas de una amilasa para la industria tortillera?.

Agradecimientos. El proyecto sobre amilasas es financiado por la DGAPA 222999. Agradecemos al TLC Fernando González el apoyo técnico.