

Nota de Investigación

ESTRUCTURA MICROSCÓPICA DEL GRANO DE MAÍZ PARTIDO E HIDRATADO Y TRATADO CON LAS ENZIMAS EXÓGENAS α -AMILASA Y PROTEASA¹

Abner Rodríguez-Carías², Beatriz A. Quintana³, Luis C. Solórzano⁴ y Paul F. Randel⁵

J. Agric. Univ. P.R. 100(2):259-262 (2016)

El objetivo de este experimento fue observar mediante microscopía de electrones el efecto de las enzimas exógenas, α -amilasa, proteasa y la combinación de ambas, sobre los gránulos de almidón y la fracción proteica presentes en el grano de maíz partido e hidratado. Para determinar los efectos de la adición de las aludidas preparaciones enzimáticas en la estructura del grano de maíz, se tomaron fotografías de muestras del maíz hidratado y tratado con o sin las enzimas bajo un microscopio electrónico de rastreo (MER). Para realizar la hidratación, se prepararon cuatro bandejas con 10 kg de maíz partido y se le agregó un 10% de agua (1 L H₂O/10 kg maíz). Al maíz previamente hidratado en las bandejas se le adicionó las enzimas a las dosis equivalentes utilizadas en dietas para ganado lechero. Los tratamientos evaluados fueron el maíz tratado sin enzimas, con α -amilasa comercial (5.6 g por bandeja), con proteasa experimental (1.2 g por bandeja) o con la combinación de ambas enzimas. Del maíz hidratado con o sin enzima de cada bandeja, se tomaron muestras (250 g) en triplicado que se guardaron en bolsas plásticas para ser expuestas a temperatura ambiente durante 0, 6 y 24 h. Después de cada periodo de tiempo de exposición las mezclas se secaron al horno a 65° C durante 48 h y se transportaron al Laboratorio de Microscopía Electrónica del Departamento de Biología, Universidad de Puerto Rico, Recinto de Mayagüez. Se prepararon muestras del maíz sometido a cada tratamiento para examinarse utilizando cilindros especiales, pegándolas con cinta adhesiva de carbón en los cilindros y bañándolas en oro, según las especificaciones del manufacturero. Las fotografías se tomaron con el MER utilizando una resolución de 2000X.

En la imagen del grano de maíz hidratado sin la adición de enzimas se identificaron los componentes que se presumen susceptibles a ser degradados por la α -amilasa, la proteasa o la combinación de ambas enzimas (Figura 1). En esta fotografía se puede observar la superficie mayormente lisa o poco rugosa y la forma casi esférica de los gránulos de almidón (GA) rodeados por cuerpos de proteínas o fracción proteica (FP; zeína) que actúa como agente adhesivo entre los gránulos.

Inmediatamente o al momento (hora 0) de adicionar las enzimas al maíz hidratado ya se puede observar el comienzo de cambios en la estructura del grano (Figura 2). Al tratar el maíz con la α -amilasa sola o combinada con la proteasa, los GA con forma mayormente esférica toman una forma irregular que presenta una superficie menos lisa. Se detecta también una mayor aglutinación, tal vez como resultado de la posible

¹Manuscrito sometido a la Junta Editorial el 12 de octubre de 2016.

²Catedrático, Departamento de Ciencia Animal, Universidad de Puerto Rico, Recinto Universitario de Mayagüez. E-mail: abner.rodriguez3@upr.edu.

³Exestudiante Graduada, Departamento de Ciencia Animal, Universidad de Puerto Rico, Recinto Universitario de Mayagüez.

⁴Catedrático Adjunto, Departamento de Ciencia Animal.

⁵Investigador, Departamento de Ciencia Animal.

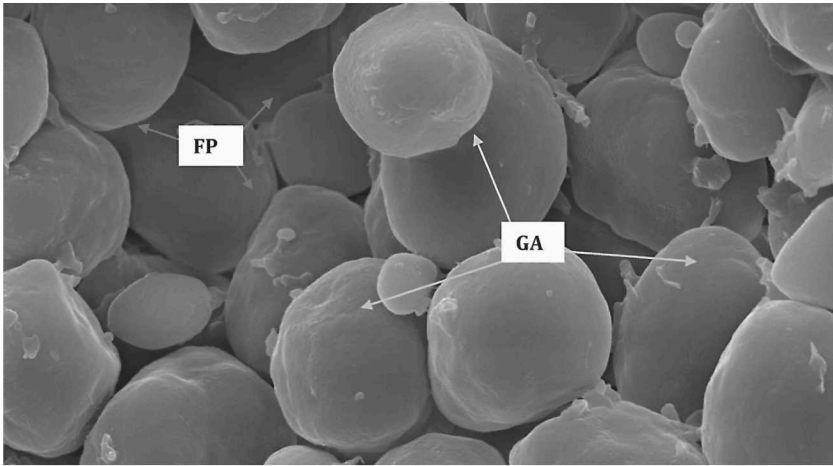


FIGURA 1. Componentes del grano de maíz hidratado sin la adición de enzimas observados en el MER. GA = gránulos de almidón, FP = fracción proteica.

gelatinización de los GA que podría deberse a la acción de la proteasa al degradar la FP (zeína) de la cubierta del grano. Estos cambios observados en la estructura del grano hidratado al momento de estar en contacto con las enzimas podrían atestiguar la efec-

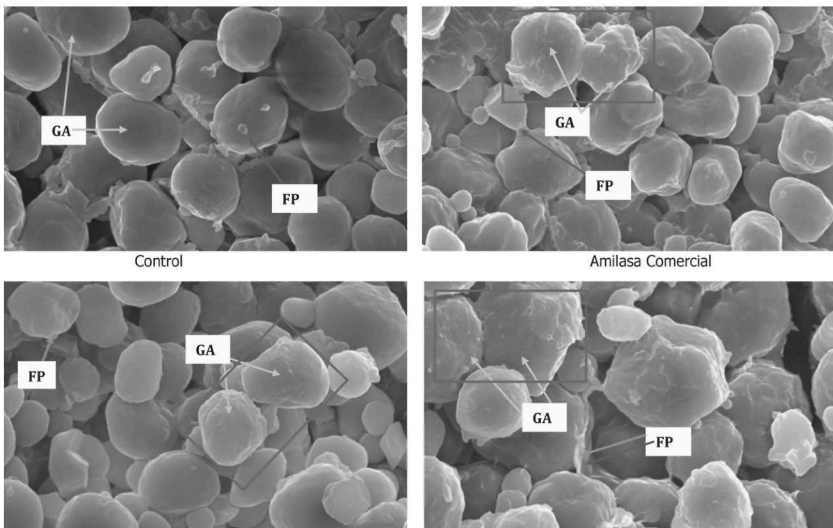


FIGURA 2. Fotografía utilizando el microscopio de rastreo a una resolución de 2000X del efecto de la adición de la α -amilasa comercial y la proteasa experimental sobre la estructura del grano de maíz al momento de adicionar las enzimas.

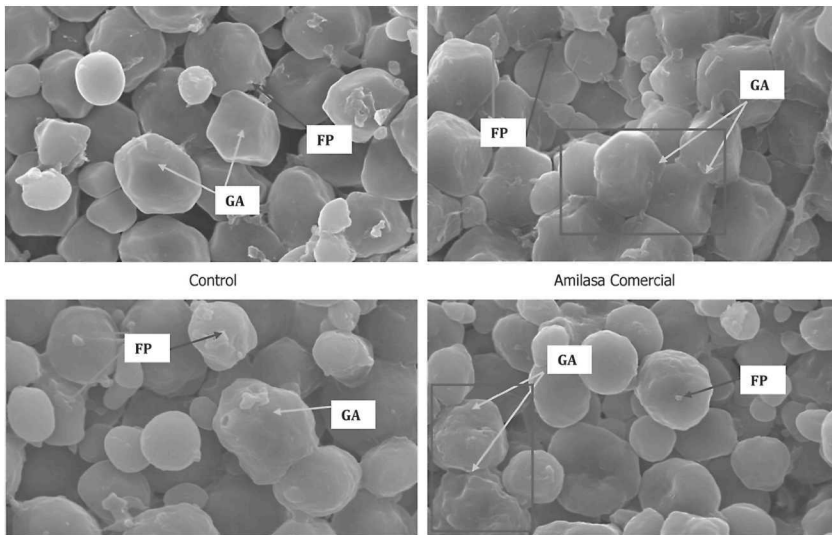


FIGURA 3. Fotografía utilizando el microscopio de rastreo a una resolución de 2000X del efecto de la adición de la α -amilasa comercial y la proteasa experimental sobre la estructura del grano de maíz a las seis horas después de adicionar las enzimas.

tividad de un medio acuoso para aumentar la actividad enzimática y facilitar o acelerar la degradación de los componentes que son sus sustratos correspondientes. Los efectos progresivos de la actividad enzimática para cambiar la estructura del grano de maíz hidratado se siguen apreciando en la fotografía tomada después de seis horas (Figura 3). Los GA continúan perdiendo su superficie lisa y esfericidad original, y los cuerpos de proteínas se reducen a pequeños trozos. Se observa los GA con estructuras rugosas y aglutinación de los mismos. En la imagen obtenida a las 24 horas de adicionar las enzimas (Figura 4) se observa la continuada disociación del GA con la FP, cambios que son más apreciables en el maíz tratado con la combinación de ambas enzimas. También se observa que la superficie de los GA del maíz tratado con α -amilasa tiene una apariencia más porosa, lo que no se observa en los GA en ausencia de la enzima. Esta porosidad resultaría de la acción hidrolítica de la α -amilasa sobre los enlaces α -glicosídicos que unen las unidades de glucosa en la molécula de almidón. Hay muy poca información publicada sobre los cambios que ocurren en la estructura de los granos como resultado de la adición de enzimas exógenas antes o durante el proceso fermentativo para la producción del ensilaje. En la presente investigación fueron notables los cambios observados, utilizando el microscopio de rastreo, en la forma, aspecto y distribución de los GA y la FP en maíz hidratado y tratado con o sin enzimas. Podemos inferir que la adición de las enzimas en un medio acuoso aceleró los cambios progresivos observados en los componentes estructurales del maíz al compararse con el maíz hidratado sin las enzimas. Hoffman et al. (2007)⁶ estudiaron cambios en la estructura del grano húmedo en maíz

⁶Hoffman, P. C., K. M. Lundberg, L. M. Bauman, R. D. Shaver y F. E. Contreras-Govea, 2007. El efecto de la madurez en la digestibilidad del FDN (fibra detergente neutro). Focus on Forage – 5(15). University of Wisconsin-Madison.

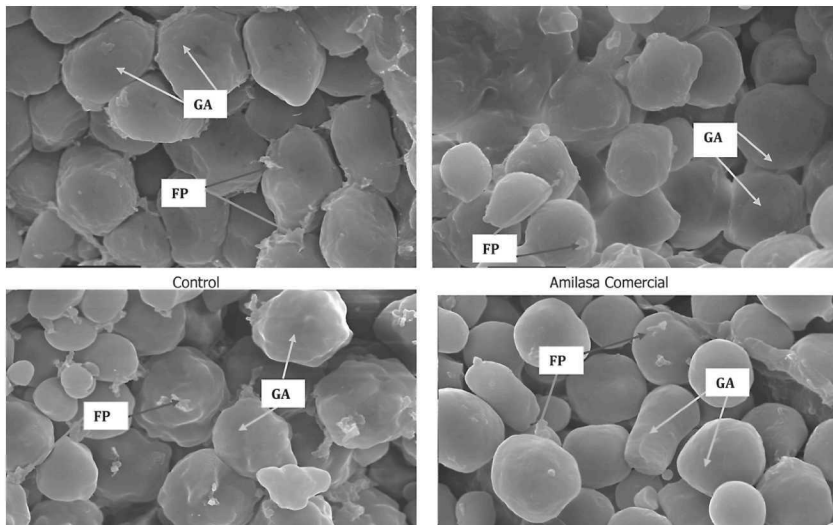


FIGURA 4. Fotografía, utilizando el microscopio de rastreo a una resolución de 2000X, del efecto de la adición de la α -amilasa comercial y la proteasa experimental sobre la estructura del grano de maíz a las 24 horas después de hidratarse.

de alta humedad ensilado durante 240 d y observaron que durante el ensilamiento la superficie del gránulo de almidón se tornó porosa y rugosa y ocurrió aglutinación de las partículas como resultado de la degradación de la cubierta proteica del grano.

En resumen, la observación de agujeros en la superficie en los gránulos de almidón en presencia de α -amilasa a la hora cero indica que al momento en que la enzima hace contacto con el maíz hidratado comienza de inmediato la hidrólisis. Este efecto demuestra un grado de hidrólisis del almidón tan grande o hasta mayor con la α -amilasa sola que con la combinación de las dos enzimas, lo que sugiere que la proteasa actuó sobre la α -amilasa, interfiriendo con su actividad. Además, fue evidente la gelatinización progresiva en los gránulos de almidón en los tratamientos de α -amilasa a las 6 y 24 h, lo que también apoya el supuesto de que la α -amilasa trabaja mejor sobre el almidón sin la presencia de proteasa. También sugiere que la α -amilasa trabajaría mejor sobre alimentos hidratados que al añadirla a dietas secas de los animales.