

Ekstrakcija i pročišćavanje glukoamilaze i proteaze, proizvedenih jednostupanjskom fermentacijom s pomoću *Aspergillus awamori*

Sažetak

U radu je ispitana simultana ekstrakcija i pročišćavanje glukoamilaze i proteaze, istodobno proizvedenih fermentacijom na čvrstoj podlozi u jednom fermentoru, s pomoću *Aspergillus awamori* Nakazawa MTCC 6652. Utvrđeno je da je najprikladniji postupak za optimalnu simultanu ekstrakciju amilaze i proteaze namakanje u 10 %-tnom glicerolu tijekom 2 sata pri sobnoj temperaturi (oko 30 °C). Tim je postupkom dobiveno 8645,8 U/g glukoamilaze i 798,6 U/g proteaze na bazi suhe tvari supstrata. Omjer je sirovog ekstrakta i acetona od 1:2 bio najbolji za simultano taloženje glukoamilaze (35,3 %), pročišćene 4,06 puta; i proteaze (61,9 %), pročišćene 7,17 puta. Ionsko izmjenjivačkom kromatografijom ispitana je specifična aktivnost pročišćenih frakcija, te su dobivene ove vrijednosti: 253,2 U/mg glukoamilaze, uz 22,1 %-tno iskorištenje; i 59,7 U/mg proteaze, uz 40,8 %-tno iskorištenje. Gel-filtracijskom je kromatografijom utvrđeno da je specifična aktivnost glukoamilaze (pročišćene 6,25 puta) bila 306,8 U/mg, uz 4,6 %-tno iskorištenje; te da je specifična aktivnost proteaze (pročišćene 17 puta) bila 85,6 U/mg, uz 12,9 %-tno iskorištenje. SDS-PAGE i zimogram pročišćenog enzima pokazuju da postoje tri izoforme glukoamilaze koje hidroliziraju škrob, molekularnih masa od otprilike 109,6; 87,1 i 59,4 kDa; te dva tipa proteaza, s molekularnim masama od približno 47,9 i 35,5 kDa. Ovi su podaci vrlo važni za industrijsku proizvodnju, u kojoj se istodobno koriste oba enzima.

Ključne riječi: ekstrakcija, pročišćavanje, amilaza, proteaza, *Aspergillus awamori*