

TABLA XVI

PRODUCCIÓN DE ALFA-AMILASA EN HARINAS POR LA CEPA B-8 A 45°C.
EFFECTO DEL USO DEL AGUA POTABLE EN EL MEDIO DE CULTIVO

FUENTE DE NITROGENO	Actividad enzimática (u/m)	AGUA DESTILADA	AGUA POTABLE
Inductor: almidón			
Harina de soya	1295		
Harina de trigo	35	24	
Inductor: maltosa			
Harina de soya	148		251
Harina de trigo	0	14	

* Wilson-Ingledeew (80°C)

TABLA XVII

ACTIVIDAD DE LA ALFA-AMILASA PRODUCIDA POR LA CEPA B-8 AL CRECER
EN UN MEDIO CON HARINA DE SOYA COMO FUENTE DE NITRÓGENO

AGUA	Actividad enzimática (u/ml)*	
	80°C	85°C
Inductor: almidón		
DESTILADA	1321	1227
POTABLE	1521	1395
Inductor: maltosa		
DESTILADA	198	0
POTABLE	254	241

TABLA XVIII

CONDICIONES FISIOLÓGICAS MÁS PROPICIAS PARA LA PRODUCCIÓN
DE ALFA-AMILASA TERMORRESISTENTE POR LA CEPÀ B-8

COMPOSICIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO	
Constituyente	g/l
Harina de soya	50.00
KH_2PO_4	0.75
K_2HPO_4	1.75
CaCO_3	0.10
Almidón soluble	10.0
Agua potable	1.0

CONDICIÓN DE INCUBACIÓN	
Factor	g/l
Temperatura	45°C
Agitación	125 rpm
pH	7.0
Tiempo	48 horas

NOTA: Se requiere extraer la enzima con buffer de fosfatos y $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

TABLA XIX

**COMPARACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS, FISIOLÓGICAS,
BIOQUÍMICAS Y DE CRECIMIENTO DE LA CEPA B-8 CON VARIAS ESPECIES DE
*Bacillus***

PRUEBA	<i>subtilis</i>	<i>licheniformis</i>	<i>cereus</i>	B8
MORFOLOGÍA				
1 Gram	+	+	+	+
2 Motilidad	+	+	+	+
Espora:				
3 Forma	Oval	Oval	Oval	Oval
4 Posición	Central	Central	Central	Central
5 Distensión del esporangio	-	-	-	-
6 Ensanchamiento	-	-	-	-
FISIOLOGÍA				
Crecimiento en:				
7 NaCl 7%	+	+	+	+
8 Agar anaeróbico	-	+	+	+
9 A 45°C	+	+	d	+
10 Temperatura máxima de crecimiento (°C)	45-55	50-55	35-45	55
BIOQUÍMICA				
Ácido de:				
11 Arabinosa	+	+	-	-
12 Xilosa	+	+	-	-
13 Manitol	+	+	-	+
14 Glucosa	+	+	+	+
15 Indol	-	-	-	-
16 Voges Proskauer	+	+	+	+
17 Citratos	+	+	+	-
18 Agar Citrato de Simmons	+	+	+	+
19 Nitrato a nitrito	+	N ₂ ,N ₂ O		
20 Amilasa	+	+	+	+
21 Catalasa	+	+	+	+
22 Yema de huevo	-	-	+	-
23 Caseína hidrolizada	+	+	+	+
24 Ureasa	d	d	d	-
25 Gelatinasa	+	+	+	+

Continuación de la tabla XIX

CRECIMIENTO

Bacillus subtilis

Colonias en medio con agar son redondas o irregulares; superficie mate; y viene a ser espesor grueso o densa y opaco.

Bacillus licheniformis

Las colonias en medios con agar son opacas con superficie mate o rugosa; comúnmente presentan excrecencias como pelos; usualmente se adhiere fuertemente el agar; su elevación y lóbulos consisten en su mayor parte de limo que a menudo se acumula en la colonia, especialmente en glucosa-agar.

Bacillus cereus

El bacilo tiende a presentarse en cadenas; la estabilidad de las cadenas determina la forma de la colonia, la cual varía grandemente en diferentes cepas. Por un extremo la colonia tiene una apariencia mate o semejante a vidrio esmerilado y un margen ondulado. En el otro extremo las colonias forman excrecencias como raíces las cuales se extienden ampliamente sobre la superficie del agar. Las excrecencias son enredadas o enmarañadas de manera irregular o formando curvas dextrógiras o levógiras en diferentes cepas.

CEPA B-8.

Medio de cultivo: Agar almidón.

Temperatura: 37°C.

Colonias grandes, en el centro una estrella blanca, con bordes crema, granulosa, ligeramente elevada del centro opaca, redonda, seca, dura.

Medio de cultivo: Caldo tripticasa-extracto de levadura.

Temperatura: 35°C

Cultivo estático: Formación de una película densa que tiende a ascender por las paredes del recipiente. No hay turbidez.

Cultivo agitado: Crecimiento disperso uniformemente en el líquido (turbidez uniforme).

TABLA XX

ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO DE LOS PRODUCTOS DE HIDRÓLISIS
DEL ALMIDÓN POR LA ENZIMA ALFA-AMILASA EXPERIMENTAL

Temperatura de Hidrólisis	Maltosa	% Azúcares reductores			Total
		Glucosa	Fructosa		
70°C	72.50	11.25	14.25	98.00	
80°C	51.75	9.00	16.50	77.25	
90°C	38.25	0.00	13.50	51.75	

TABLA XXI

PRODUCCIÓN DE ALFA-AMILASA EN 600 ML DE MEDIO DE CULTIVO
UTILIZANDO ALMIDÓN COMO INDUCTOR Y AGUA POTABLE

FUENTE DE NITRÓGENO	pH	Actividad (u/ml)
Peptona de soya	6.75	783
Extracto de levadura	6.80	751
Harina de soya	6.70	855

TABLA XXII

RESULTADOS OBTENIDOS DURANTE EL PROCESO EN LA PRODUCCIÓN ALFA-AMILASA
EN UN FERMENTADOR CON UN VOLUMEN DE SEIS LITROS DE MEDIOS DE CULTIVO

Tiempo	Turbidez % T	Peso seco mg/ml	Azúcares mg/ml	Actividad*	pH	D.O. mgO ₂ /l
0	77	1.35	7.500	15.0	6.95	17
4	52	1.96	7.620	21.8	6.95	16
8	35	2.36	5.950	197.4	6.95	6
12	30	2.50	4.490	197.5	6.92	8
15	26	3.06	3.480	279.8	6.92	7
23	26	3.46	1.770	346.7	6.92	9
25	28	2.48	1.640	211.0	6.95	10
26	27	2.42	1.610	295.0	6.95	10
28	28	2.30	1.520	390.5	6.95	10
30	30	2.26	1.450	398.0	6.95	10
36	32	2.26	1.380	583.0	6.97	14
49	37	2.24	1.240	490.0	7.05	10

* Actividad a 80°C

TABLA XXIII

DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE PROTEASAS
DURANTE LA PRODUCCIÓN DE ALFA-AMILASAS

Tiempo de Producción Horas	Diámetro de la zona de hidrólisis (mm)		
	3	7	24
4	0.0	0.0	0.0
15	0.4	0.7	1.0
26	0.3	0.6	0.9
36	0.4	0.8	1.1

TABLA XXIV

ACCIÓN AMILOLÍTICA DE LA ALFA-AMILASA EXPERIMENTAL SOBRE
LA CEBADA Y LA MALTA A 80°C

Sustrato	Estado físico	Tiempo de decoloración (min.)	
		Control	Alfa-amilasa
Cebada	Particulada	180.0*	120.0**
	Gelatinizada	180.0*	100.0**
Malta	Particulada	20.0	3.5
	Gelatinizada	170.0*	5.0

* Color azul oscuro

** Color pardo

ENZIMA: 6,314 U/ML

Temperatura de hidrólisis 80°C

TABLA XXV

GRADO DE HIDRÓLISIS DE LOS ALMIDONES PRESENTES EN LA MALTA
POR LA ALFA-AMILASA EXPERIMENTAL

Sustrato	Estado físico	Azúcares reductores (g/100 ml)	
		Control	Alfa-amilasa
Malta	Particulada	7.27	16.32
	Gelatinizada	2.09	7.34

Temperatura de hidrólisis de 80°C.

TABLA XXVI

DATOS EXPERIMENTALES DE MACERACIÓN OBTENIDOS MEDIANTE EL USO
DE UN EXTRACTO COMERCIAL Y LA ALFA-AMILASA EXPERIMENTAL

ANÁLISIS	MOSTO EXTRACTO COMERCIAL	ALFA-AMILASA EXPERIMENTAL
Gravedad	14-15°P	14°P
Color	5.25	5.00
pH	5.40	5.38

TABLA XXVII

DATOS EXPERIMENTALES DE MACERACIÓN OBTENIDOS MEDIANTE EL USO
DE UN EXTRACTO COMERCIAL Y LA ALFA-AMILASA EXPERIMENTAL

MOSTO	SP	MALTOSA	GLUCOSA	FRUCTOSA
		%	%	%
A	15.4	9.39	0.94	0.11
B	15.1	7.83	1.48	0.20
C	14.3	8.75	0.94	0.12
D	15.8	9.32	0.83	0.14
E	14.1	9.02	0.76	0.12
Enzima experimental	14.0	0.097	0.015	0.019

TABLA XXVIII
CONTENIDO DE NITRÓGENO DE LAS HARINAS UTILIZADAS

COMPONENTE (g/100 g)	HARINA SOYA	TRIGO
Nitrógeno total	5.30	3.33
Proteína	29.50	18.96

Datos proporcionados por el Departamento de Servicios Profesionales de la Facultad de Ciencias Químicas, U.A.N.L.

TABLA XXIX

COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL AGUA POTABLE

DETERMINACIÓN	VALOR
Conductividad específica (Micromhos/Cm)	600.0
Dureza total (como ppm de CaCO ₃)	290.0
Dureza de calcio (como ppm de CaCO ₃)	240.0
Dureza de magnesio (como ppm de CaCO ₃)	30.0
Alcalinidad a la fenolftaleína (como ppm de CaCO ₃)	: 0.0
Alcalinidad al naranja de metilo (como ppm de CaCO ₃)	160.0
Cloruros (como ppm de Cl ⁻)	35.0
Sulfatos (como ppm de SO ₄ ²⁻)	146.0
Potencial de hidrógeno (pH)	7.6

Datos proporcionados por el Departamento de Servicios Profesionales de la Facultad de Ciencias Químicas, U.A.N.L.

TABLA XXX

PRODUCCIÓN DE ALFA-AMILASA EN PROCESOS DE FERMENTACIÓN SEMEJANTES AL REALIZADO

MICROORGANISMO	FUENTE DE NITRÓGENO	ACTIVIDAD ENZIMÁTICA	REFERENCIA
<i>B. amylloquefaciens</i>	Extracto de levadura	6500.0 LAU/ml ¹	4
<i>B. caldolyticus</i>	Casitona	18000.0 U/g ²	28
<i>B. subtilis</i>	Peptona	1440.0 KNU/l ³	31
<i>B. subtilis</i>	Cebada/Malta	770.0 u/ml ⁴	59
<i>B. stearothermophilus</i>	Peptona	21.3 U/mg ⁵	88
<i>B. licheniformis</i>	Extracto de levadura/Casitona		Tesis
	Matraz	4000.0 u/ml ⁶	
	Fermentador	583.0 u/ml ⁶	

1 LAU.- Una unidad líquificante de alfa-amilasa hidroliza 1 ug de almidón soluble/min. en las condiciones de la hidrólisis.

2 U.- Correlaciona la concentración de amilasa en una unidad arbitraria y la diferencia de absorbencia con el reactivo de iodo, antes y después del período de incubación.

3 KNU.- Una unidad (NU) es definida como la cantidad de enzima que en condiciones estándar, en una hora hidroliza 5.26 mg de almidón.

4 u.- Una unidad de actividad es la cantidad de enzima que libera grupos reductores de una solución al 1% de almidón soluble de Lintner (Merck) en tres minutos, correspondiendo a 1 mg de maltosa.

5 U.- Una unidad sacaríficante es la cantidad de enzima requerida para liberar 1 mg de maltosa por minuto.

6 u.- Una unidad de alfa-amilasa es la cantidad de enzima que hidrolizará 0.1 mg de almidón en 10 minutos, cuando 4.0 mg de almidón estén presentes.

VII. FIGURAS

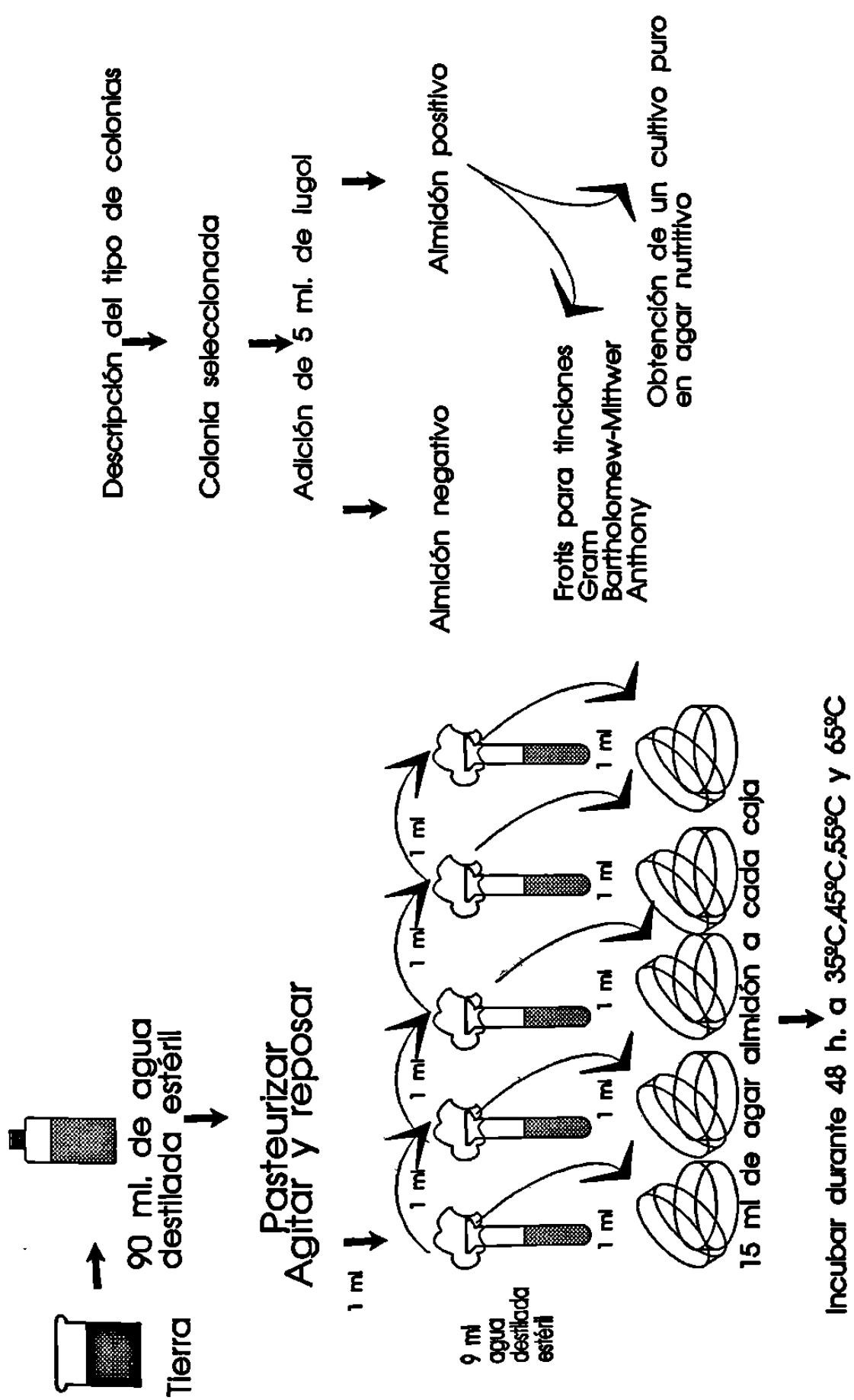


Figura No. 1 Método de aislamiento para la obtención de un cultivo puro de una bacteria productora de amilasa.

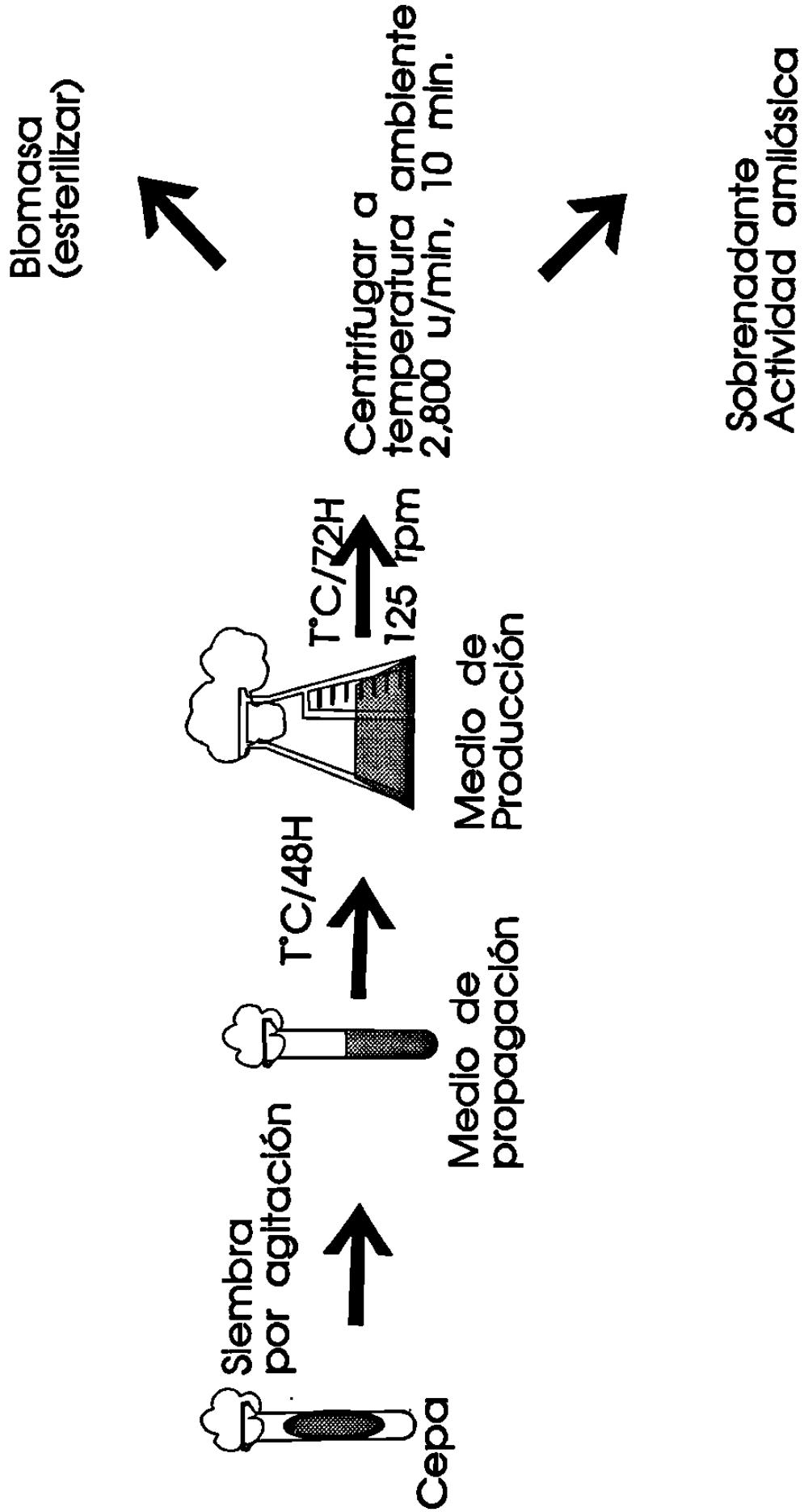


Figura No. 2 Ensayo preliminar para la selección de la cepa productora de amilasa.

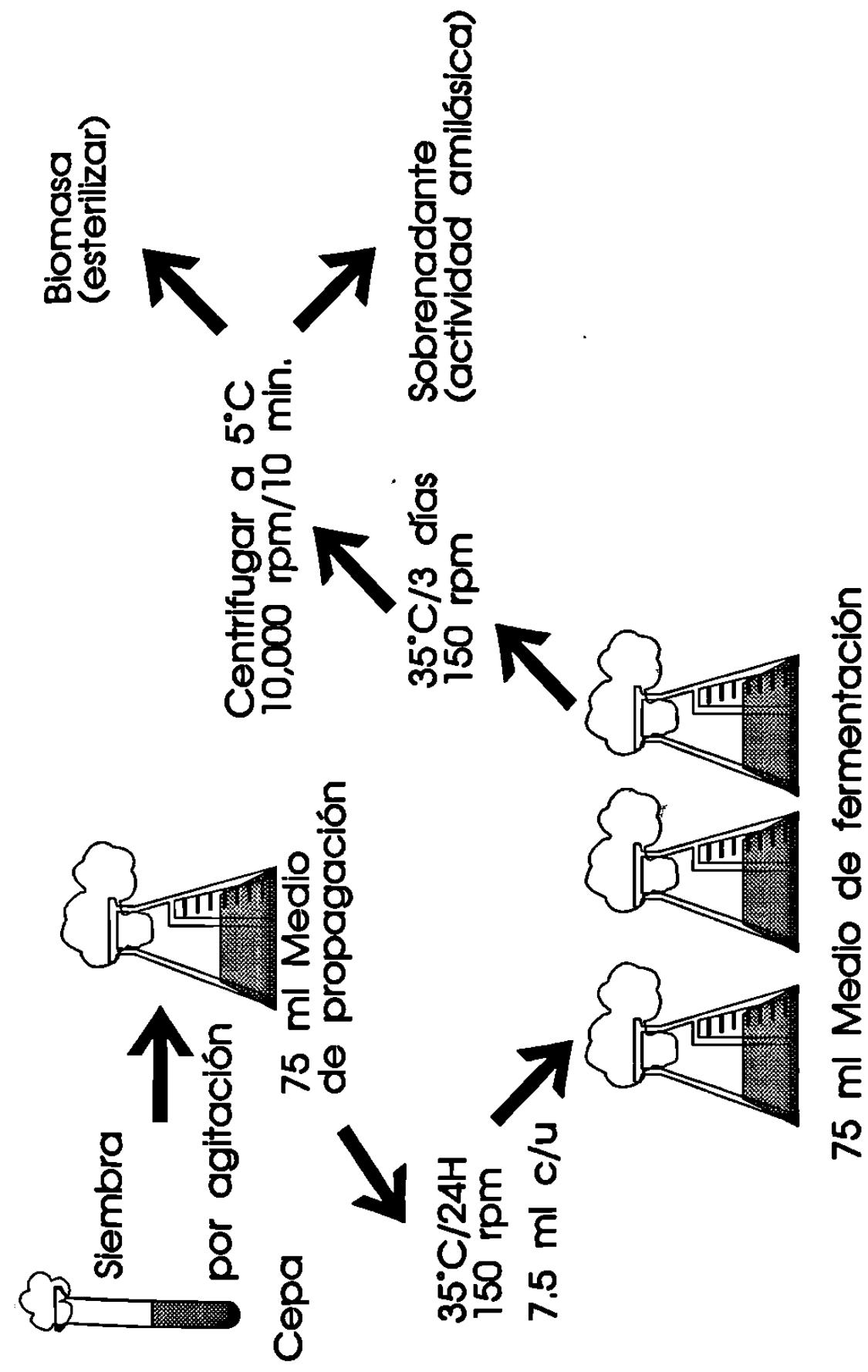


Figura No. 3 Procedimiento empleado para confirmar la elección de la cepa productora de amilasa.

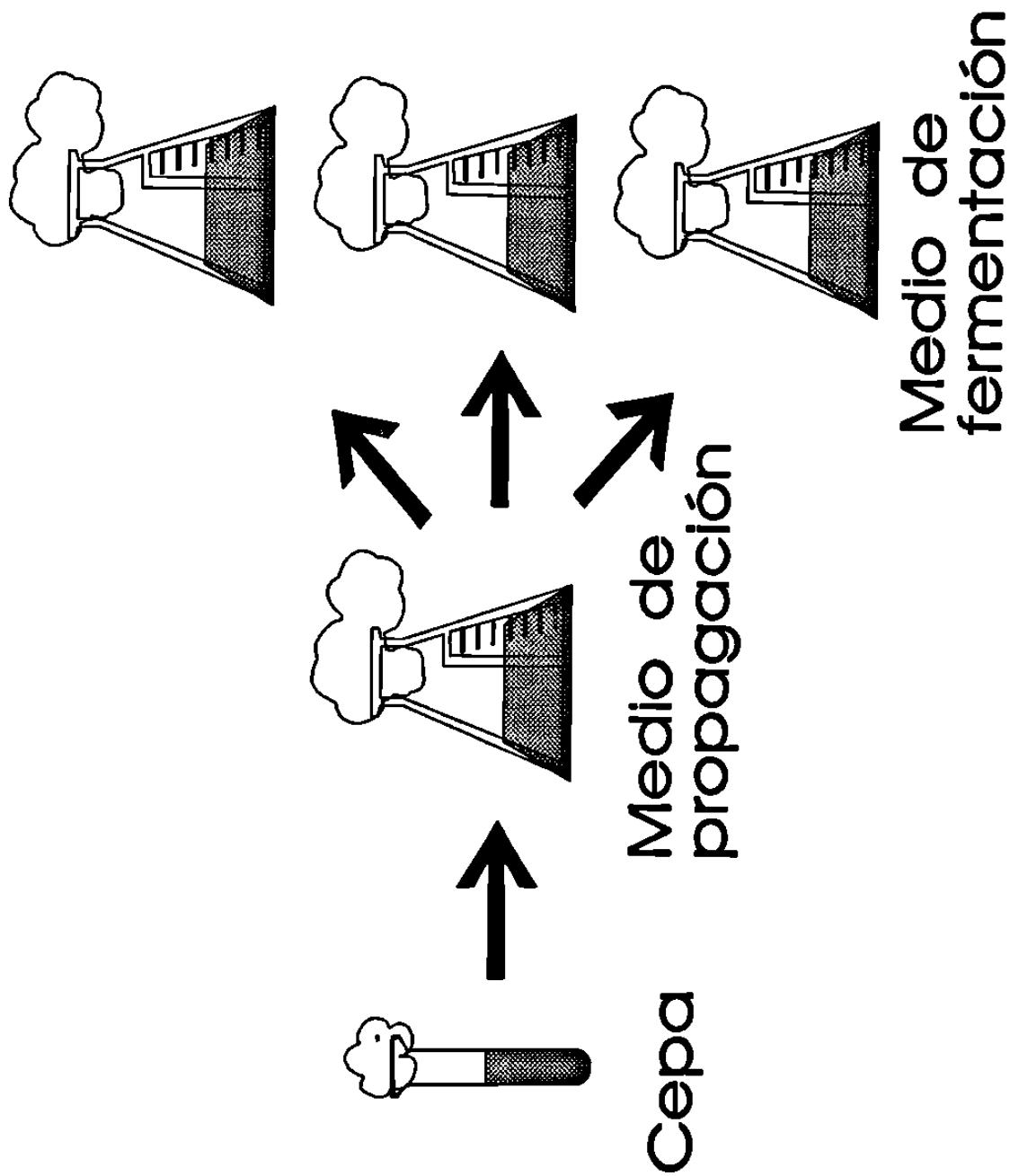


Figura No. 4 Método para preparar el inóculo a nivel matraz

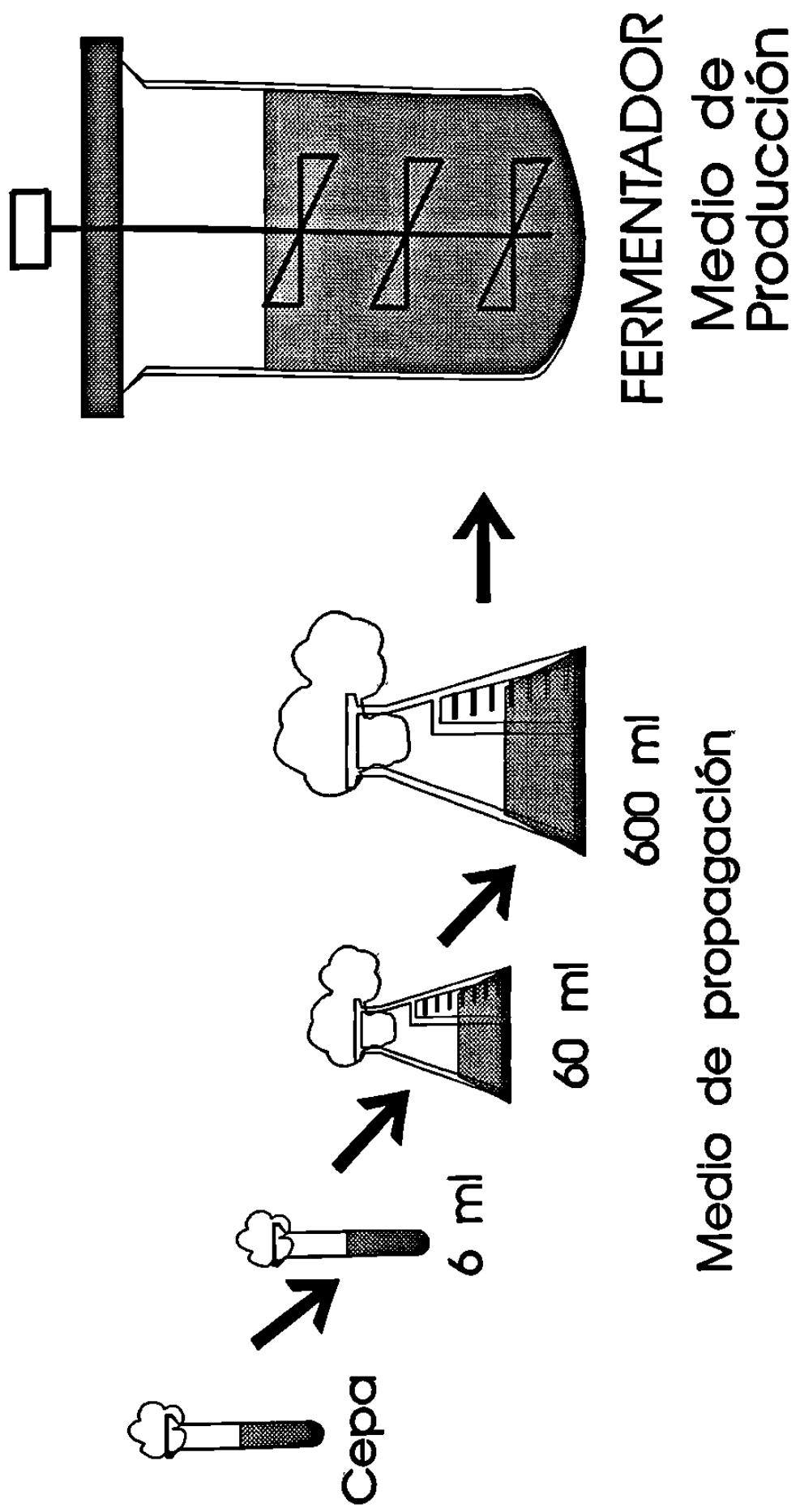


Figura No. 5 Método para preparar el inóculo a nivel semipiloto.

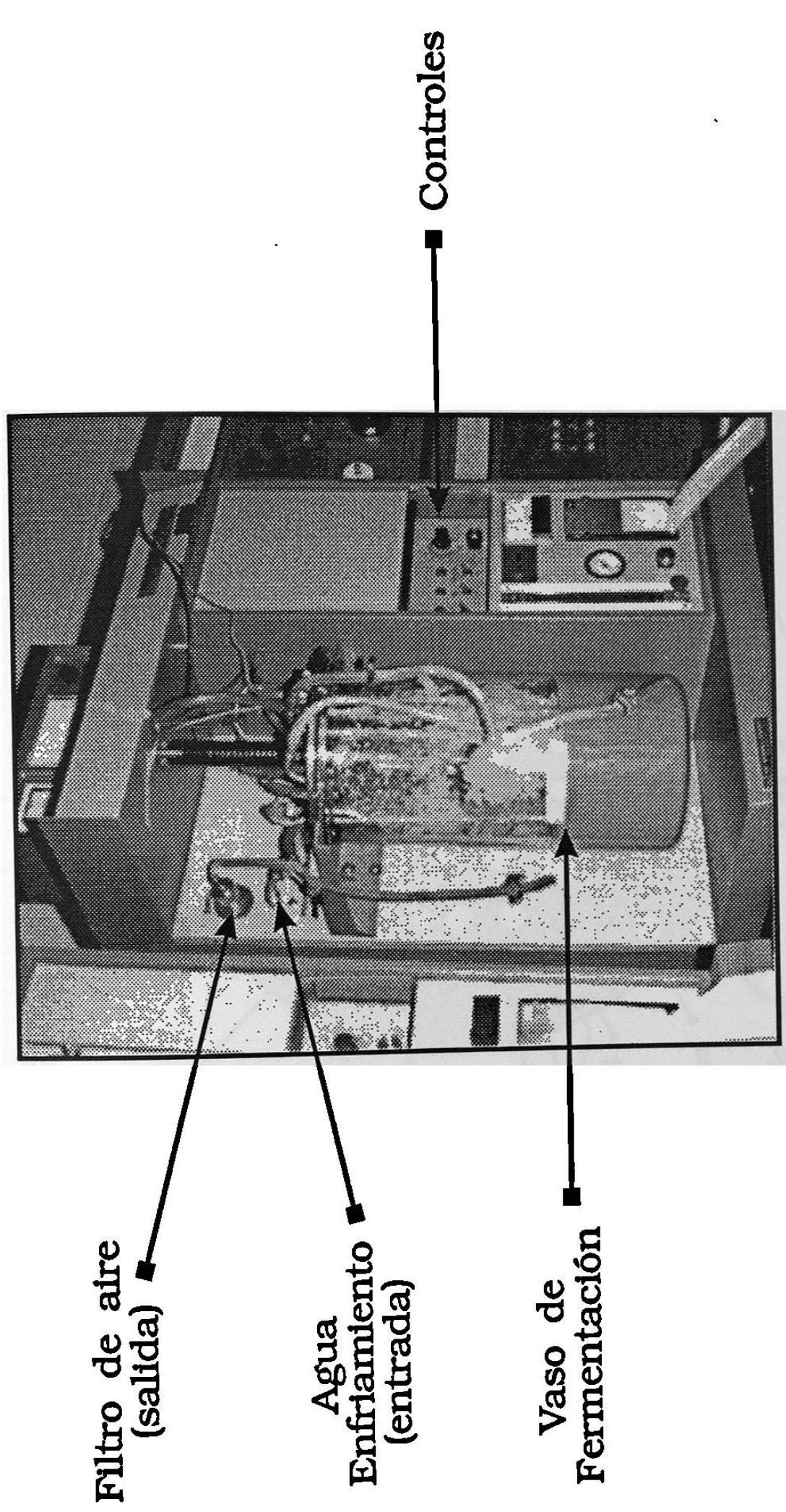


Figura No.6 Fermentador MF-114 de New Brunswick Scientific Co., Inc.

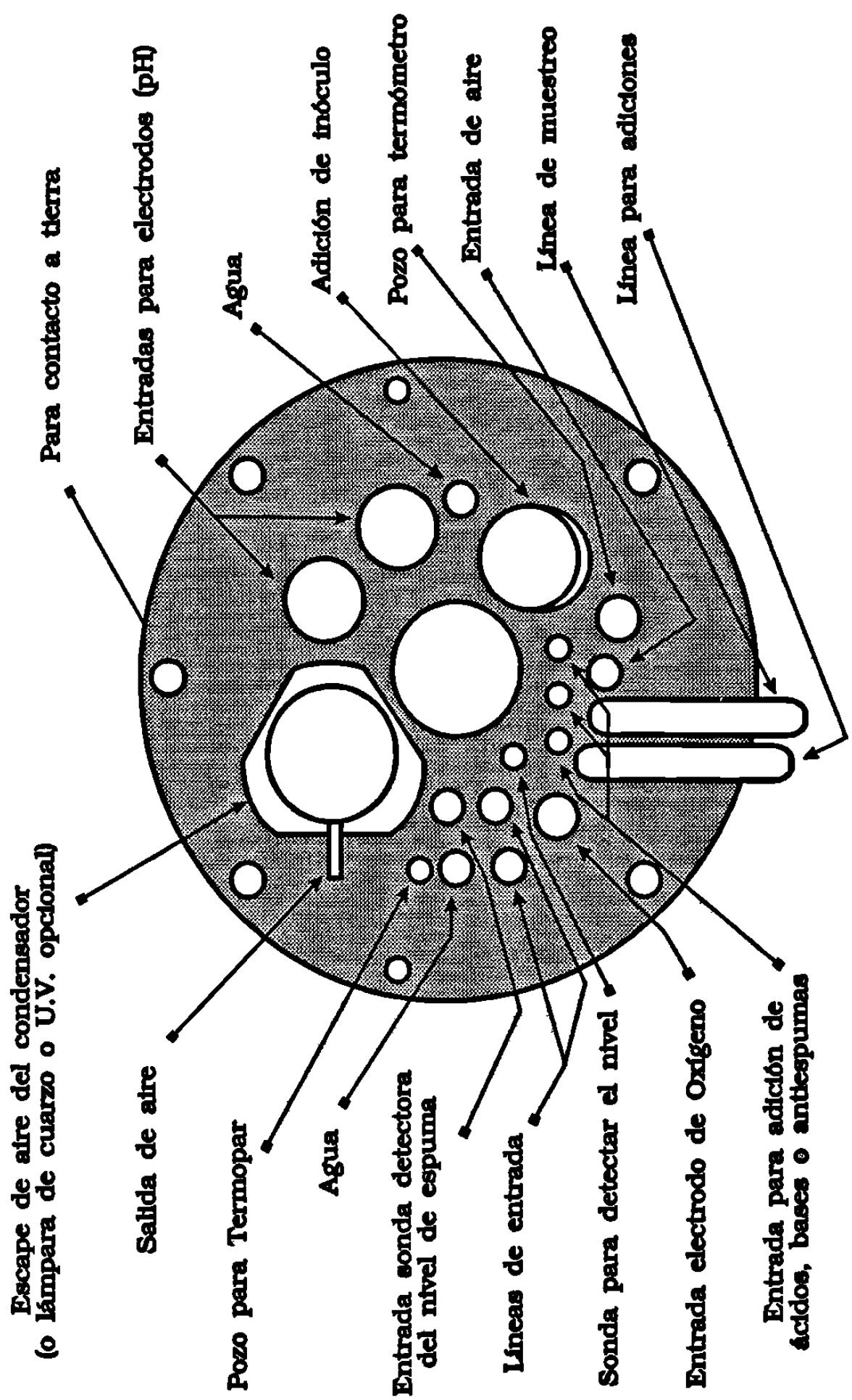
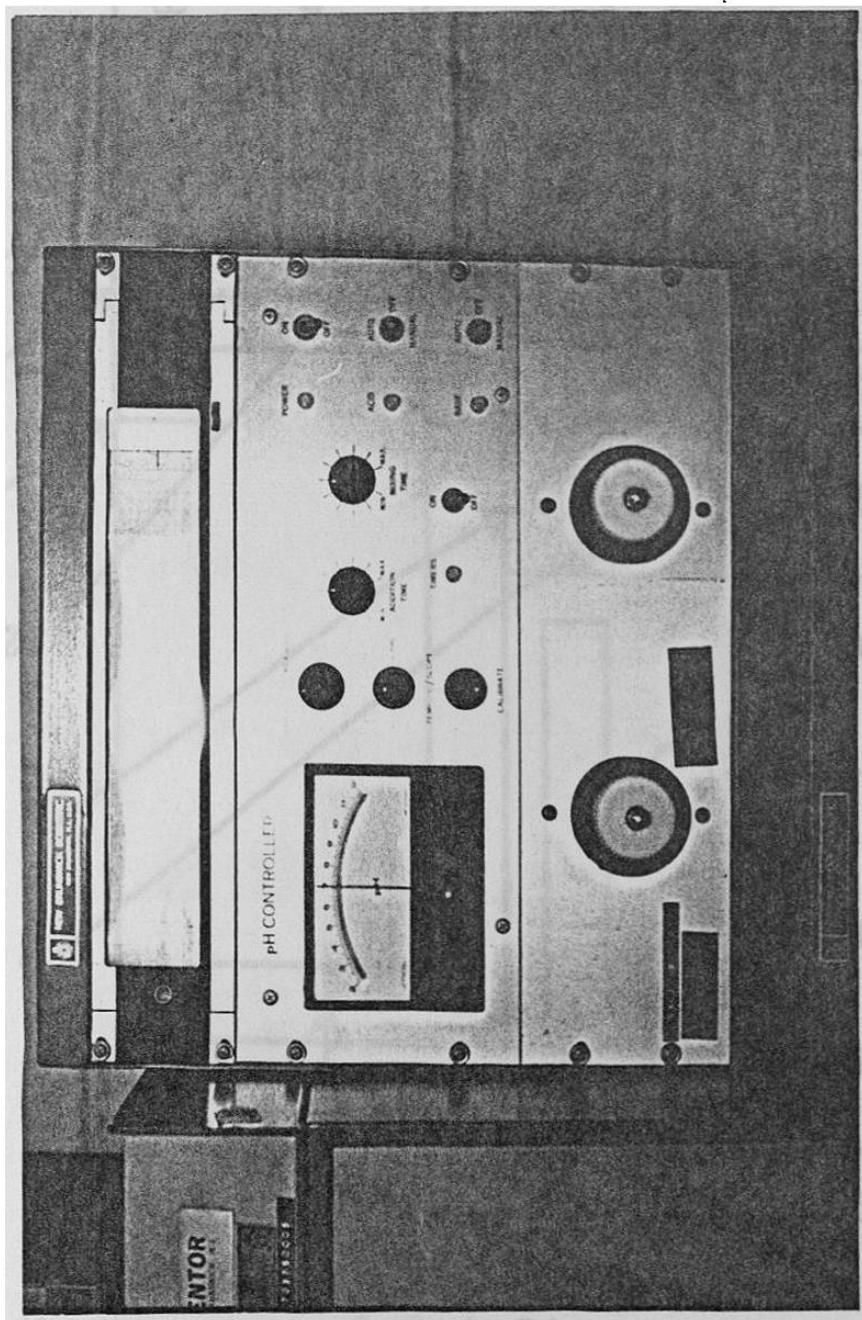
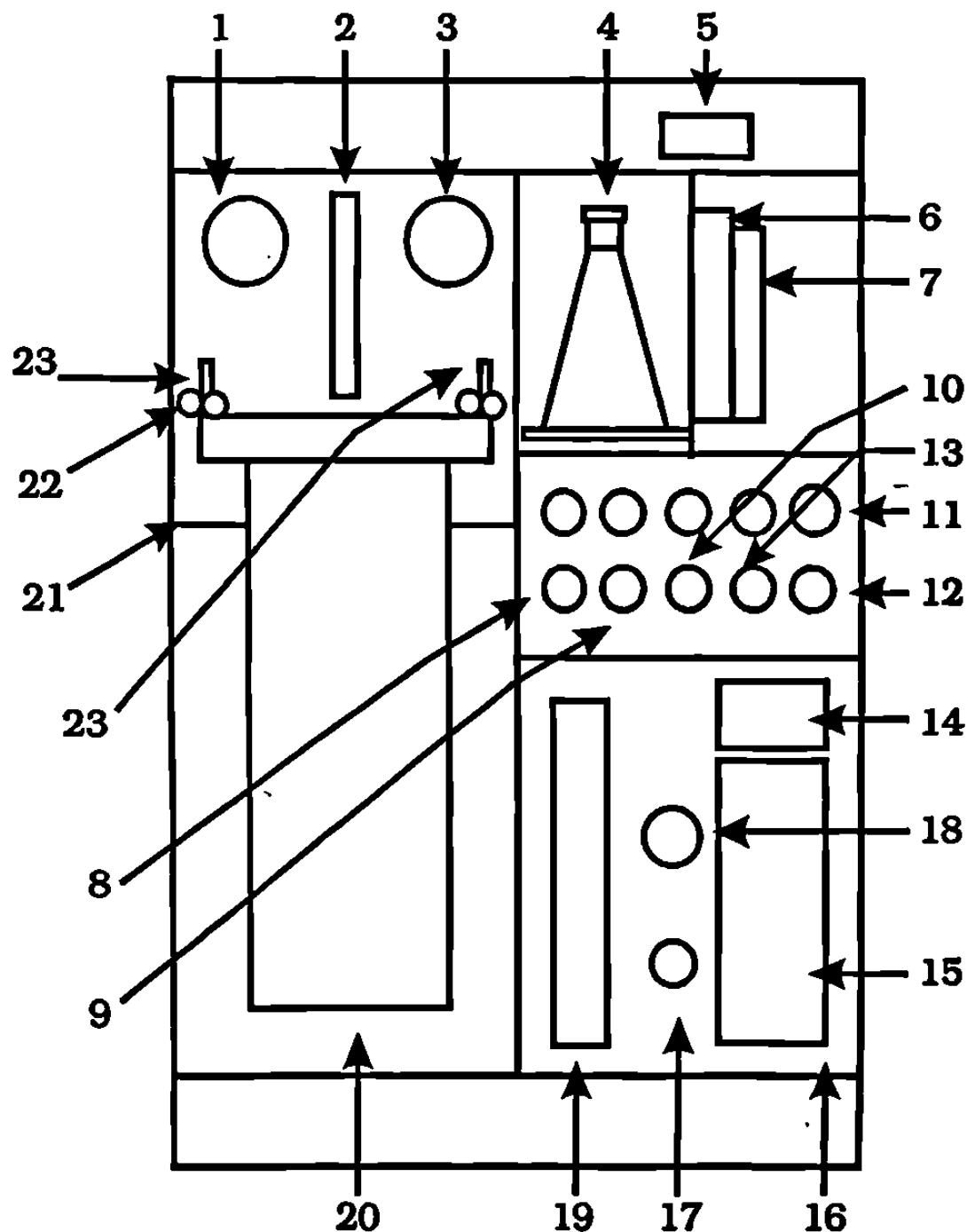


Figura No.7 Esquema de la tapa del Vaso de Fermentación.

Figura No.8 Indicador y controlador modular de pH
Modelo pH 22 New Brunswick Scientific Co., Inc.





- | | | |
|--|--|--|
| 1.- Filtro para aire
2.- Acoplamiento
Transmisión
3.- Filtro de salida
de aire
4.- Control de
espuma
5.- Recipiente
antiespumante
6.- Panel de
control bomba | 7.- Bomba P.A.
8.- Boton encendido
9.- Calefacción
10.- Transmisión
11.- Control de
temperatura
12.- Agitación
13.- Control
enfriamiento
14.- Tacometro
15.- Registrador de
temperatura | 16.- Panel control
inferior
17.- Reg. presión aire
18.- Manometro
19.- Medidor de
flujo
20.- Recipiente 14 L.
21.- Soporte
recipiente
22.- Abrazaderas
recipiente
23.- Lineas de agua |
|--|--|--|

Figura No.9 Controles del fermentador, Microferm, serie MF-114.

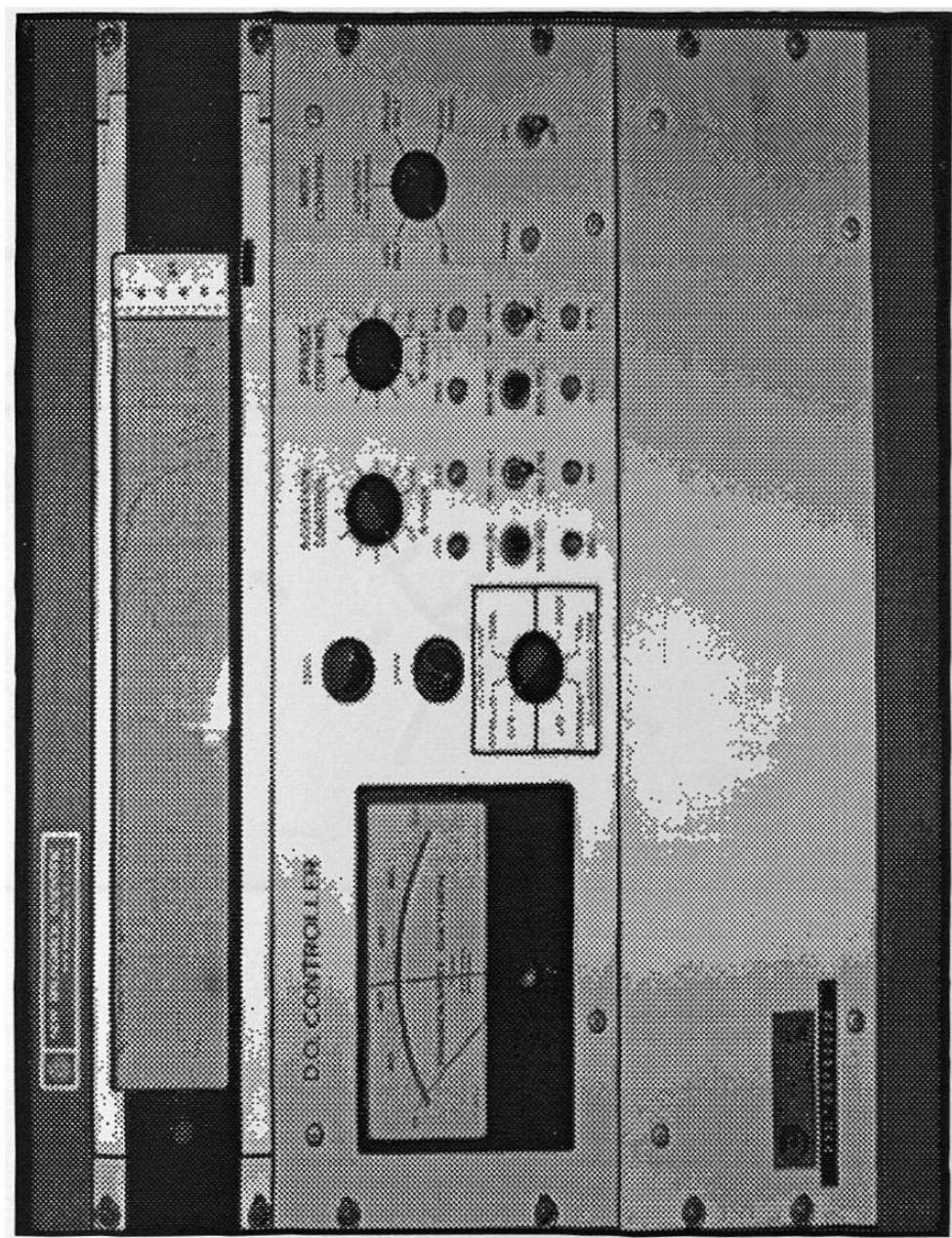


Figura No.10 Analizador de Oxígeno disuelto
New Brunswick Scientific Co., Inc.

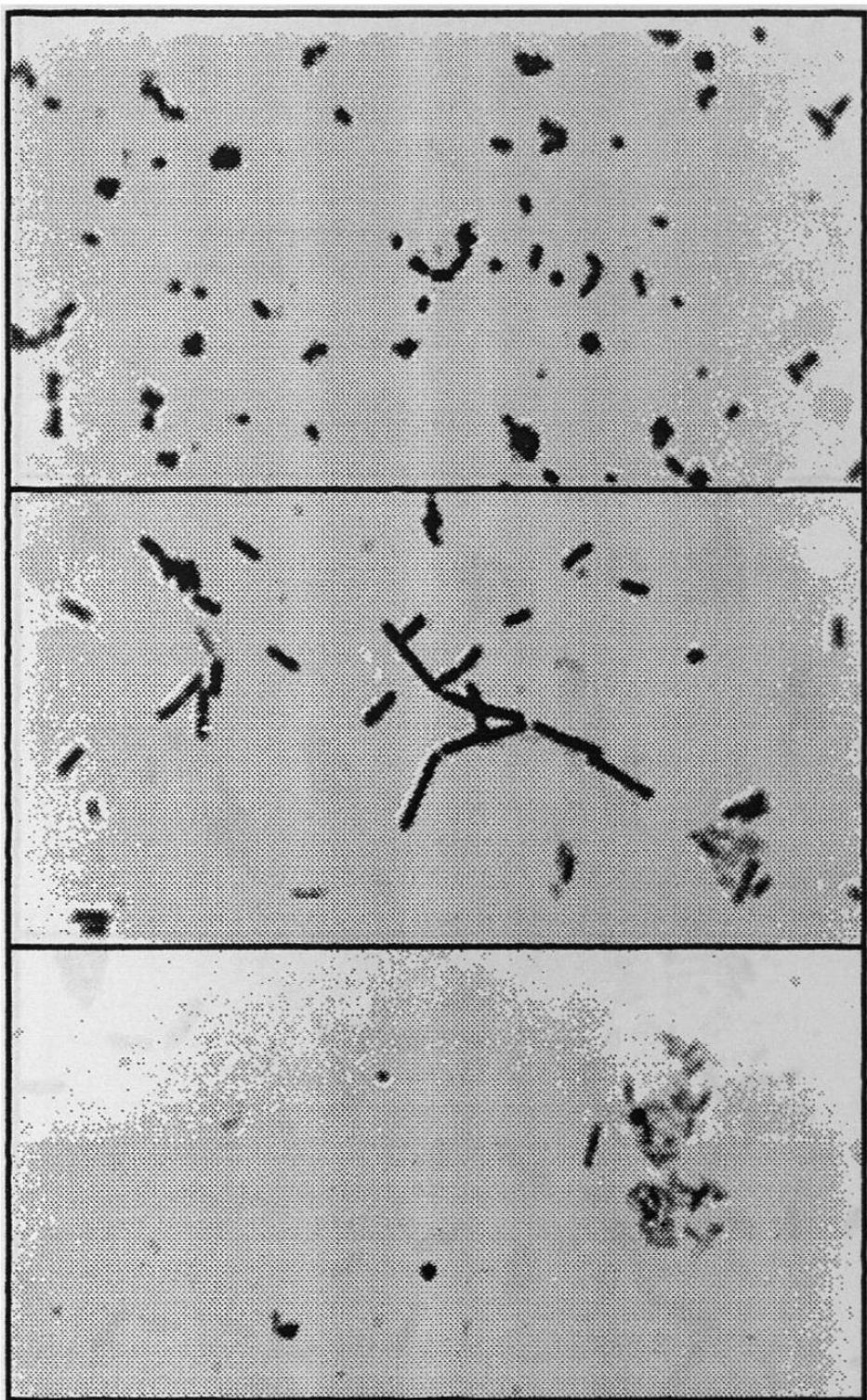


Figura No. 11 Variaciones morfológicas de la cepa B-8 al incubarse a diferentes temperaturas.
(a) 35°C (b) 45°C (c) 55°C

Figura No. 11

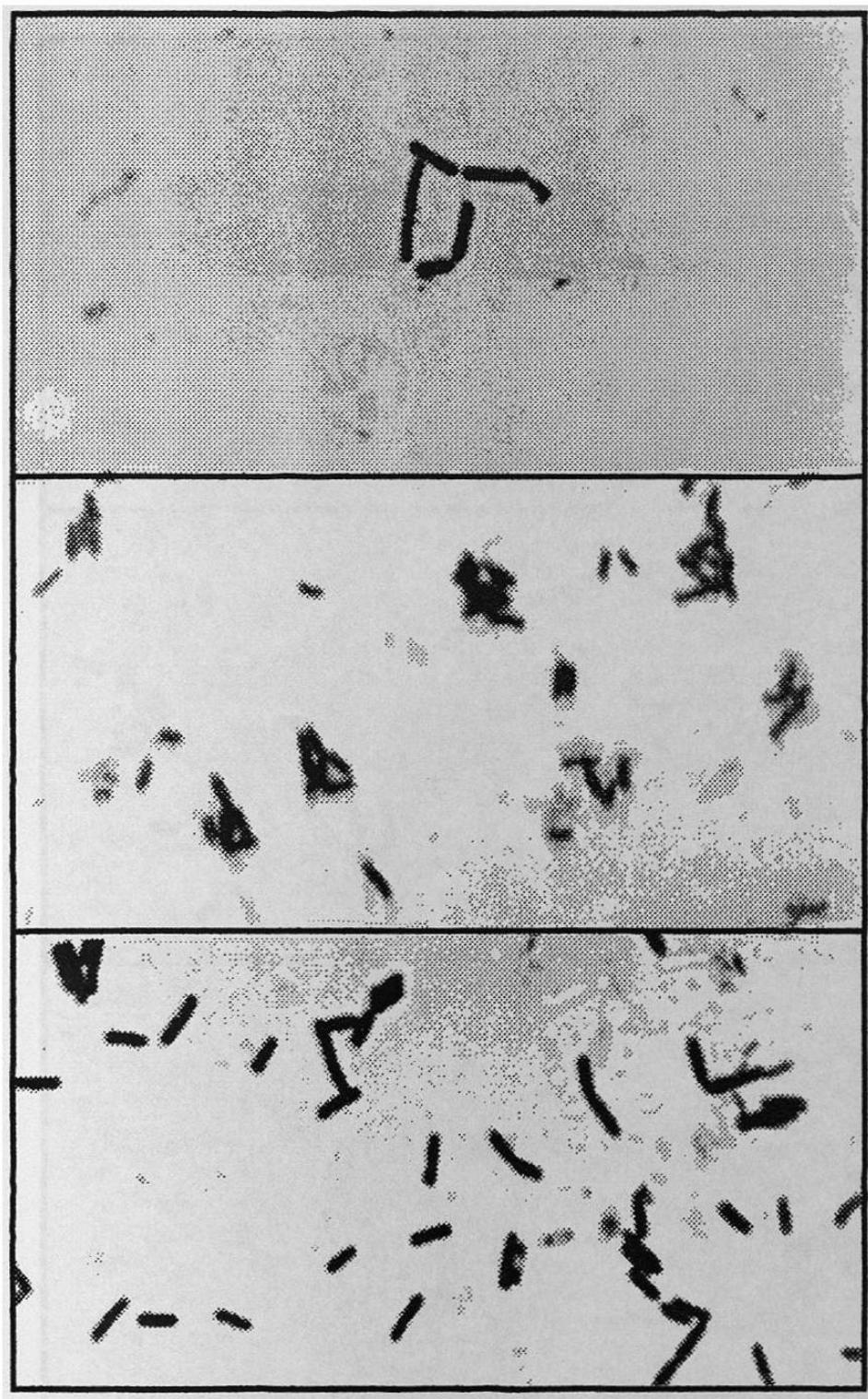


Figura No. 12 Variaciones morfológicas de la cepa B-30 al incubarse a diferentes temperaturas.
(a) 35°C (b) 45°C (c) 55°C

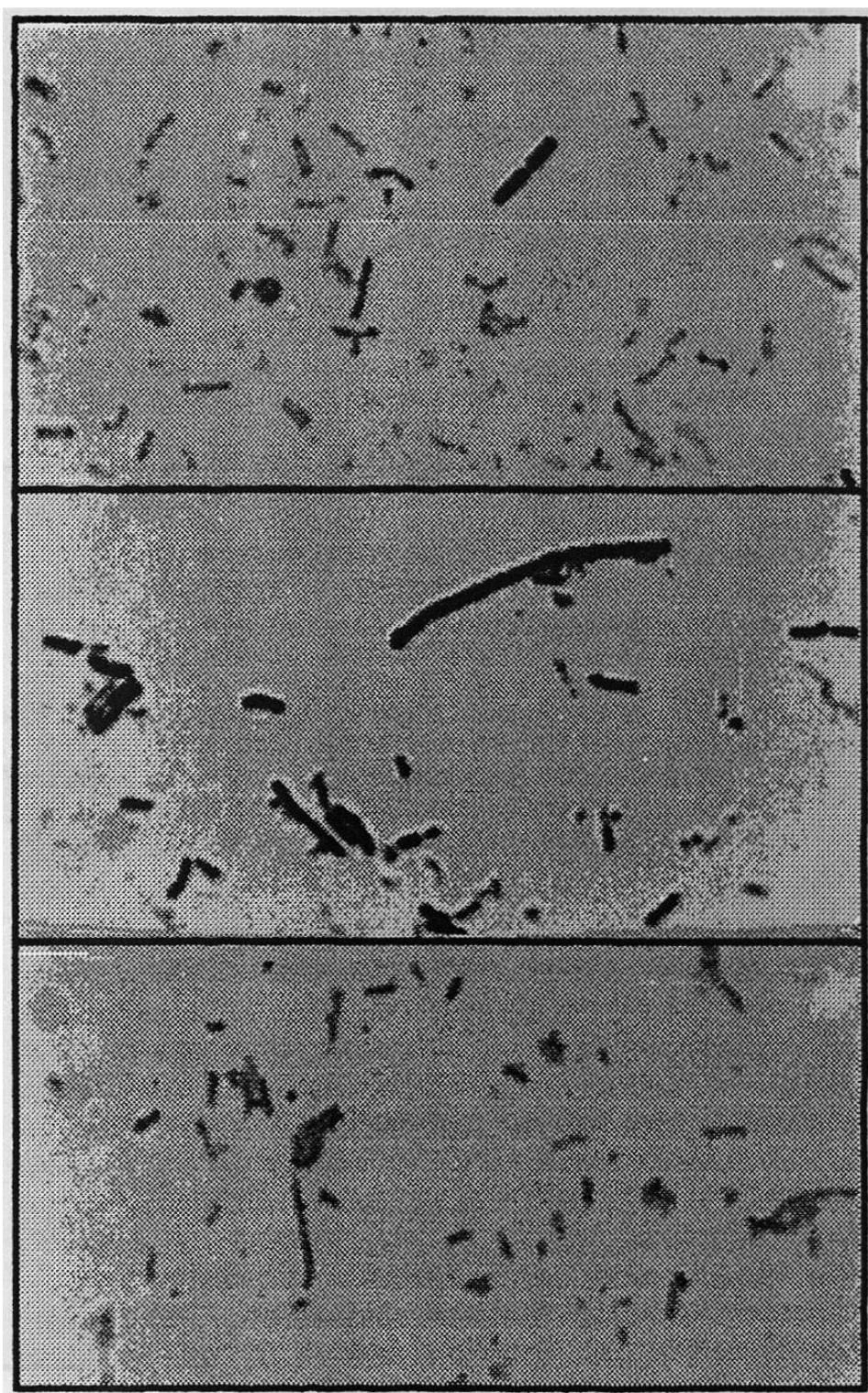
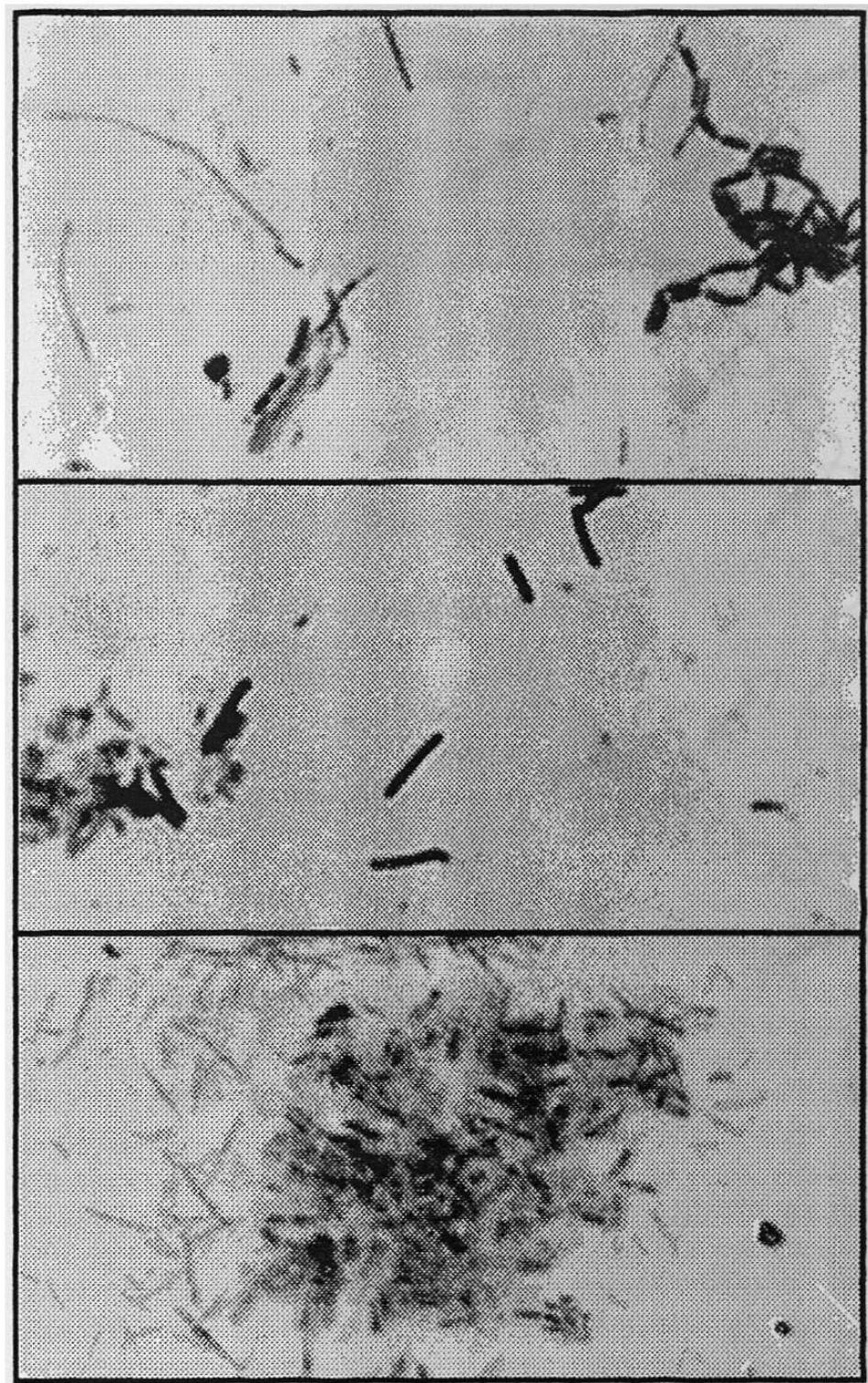


Figura No. 13 Variaciones morfológicas de las cepas B-55 al incubarse a diferentes temperaturas.
(a) 35°C (b) 45°C (c) 55°C



cadif

Figura No.14 Variaciones morfológicas de la cepa B-8 durante la producción de α -amilasa.
(a) 24 hrs. (b) 48 hrs. (c) 72 hrs.

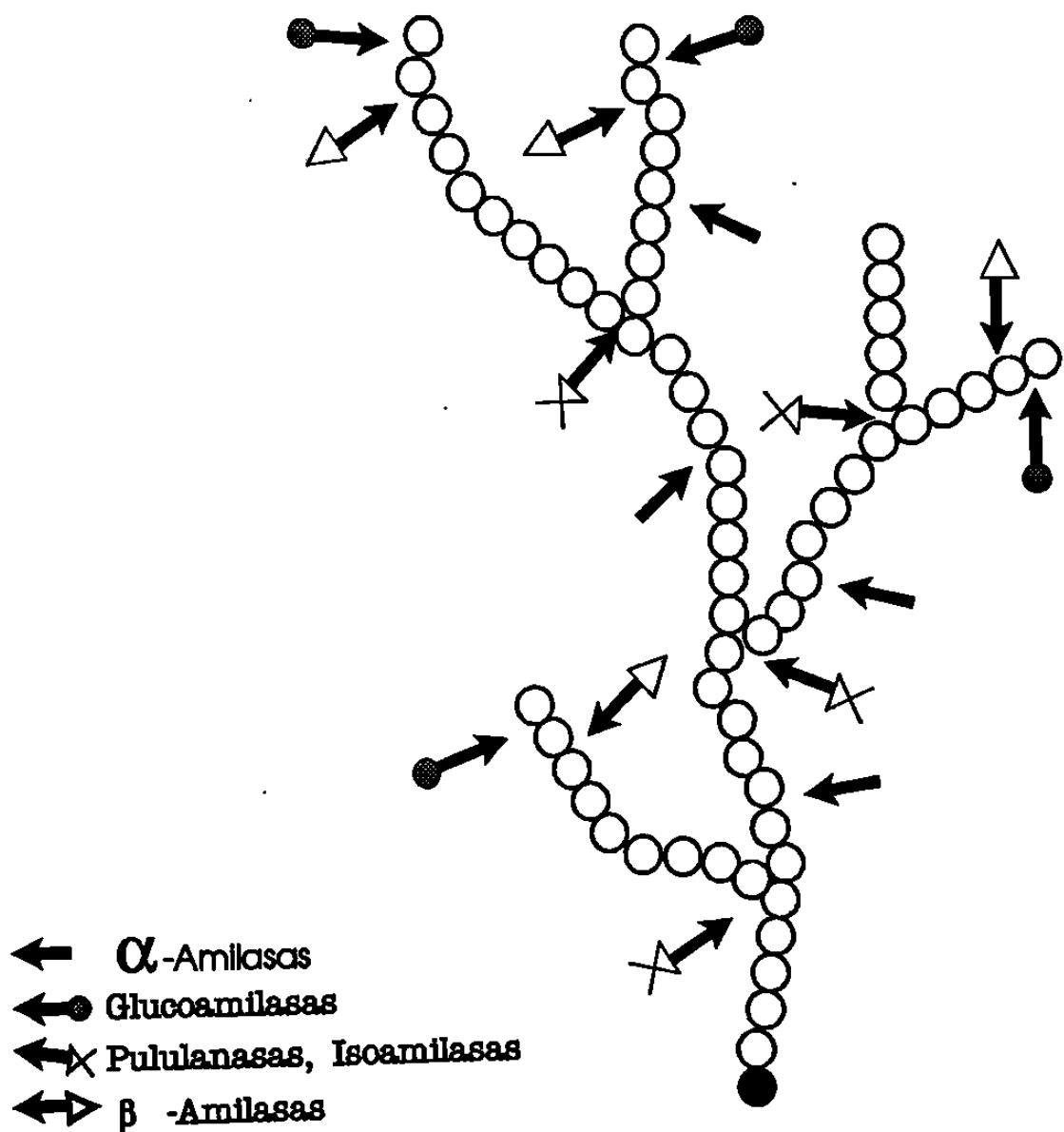


Figura No. 15 Mecanismo de hidrólisis del almidón por las amilasas.

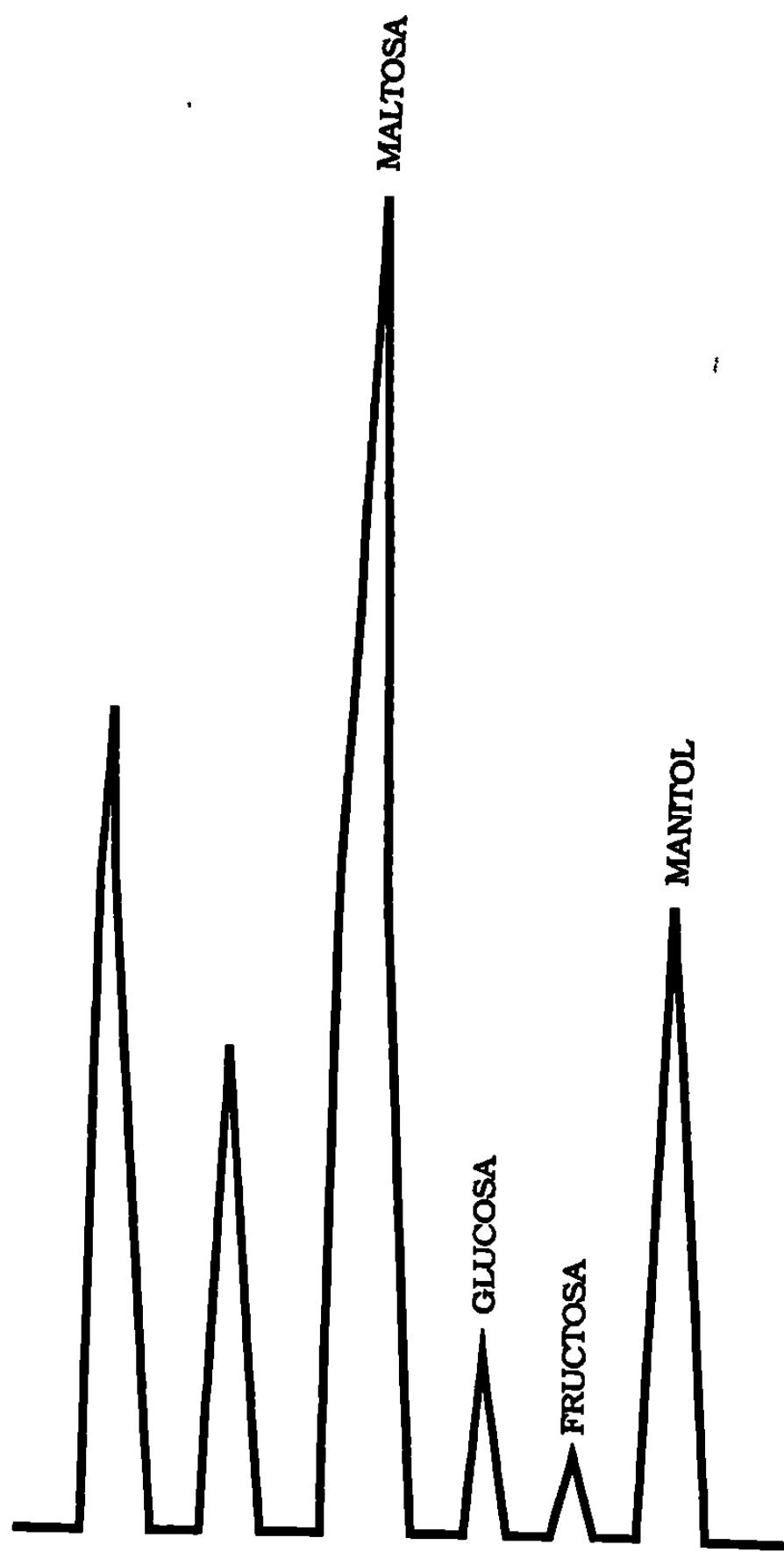
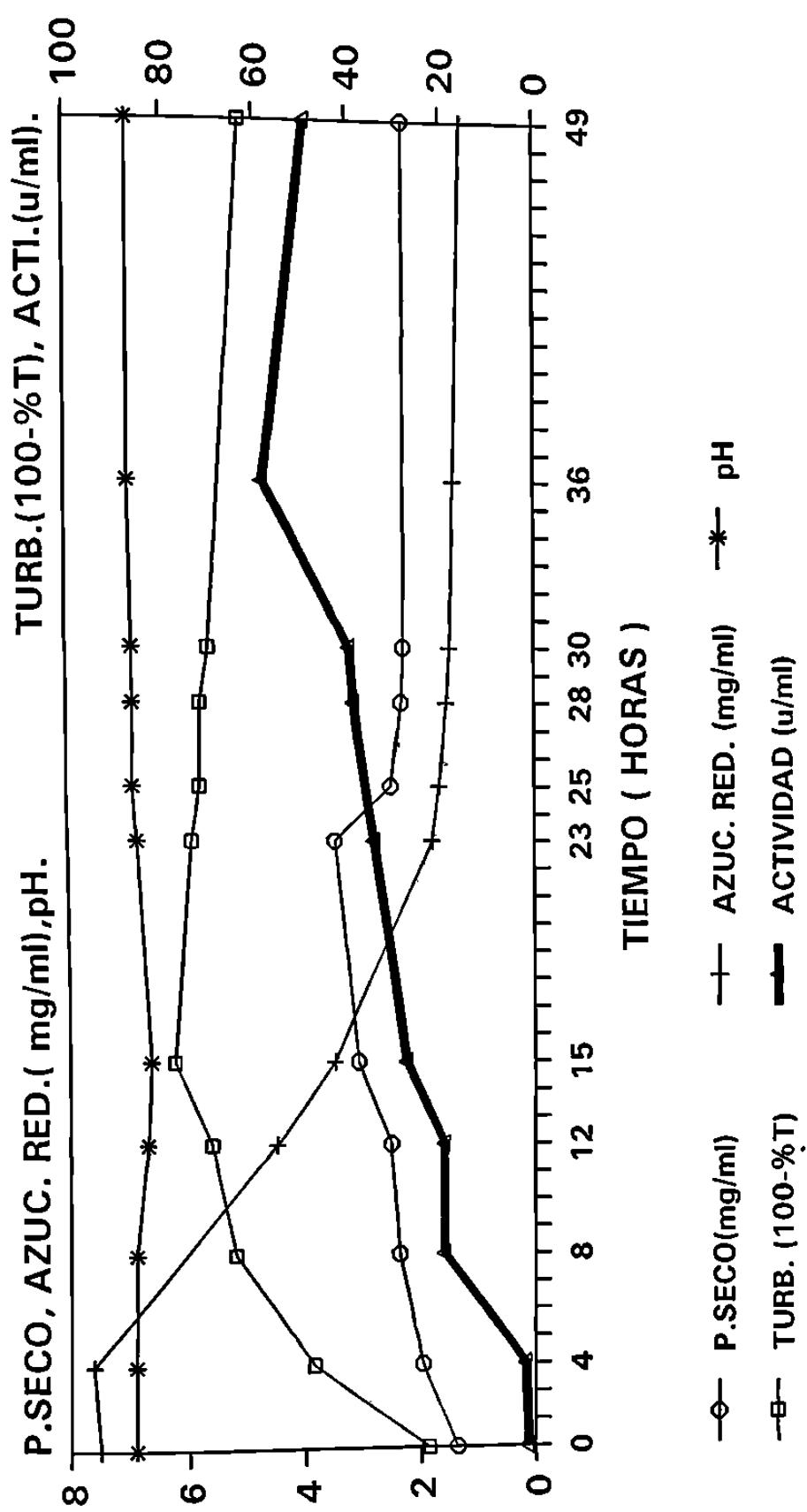


Figura No.16 Perfil cromatográfico de los carbohidratos resultantes de la actividad enzimática

VIII. GRAFICAS



GRAFICA 1.-
GRAFICA DE PROCESO PARA PRODUCIR ALFA-
AMILASA EN UN FERMENTADOR DE 6 LITROS.

IX.- APENDICE

IX. APENDICE

1. COLORANTES.

1.1.- Cristal violeta.

a) Solución madre de cristal violeta.

Cristal violeta, colorante al 85% 25.0 g.

Alcohol etílico de 95 100.0 ml.

b) Solución madre de oxalato

Oxalato de amonio 1.0 g.

Agua destilada 100.0 ml.

Solución para empleo inmediato: Diluir la solución madre de cristal violeta en proporción de 1:10 con agua destilada y mezclar con 4 volúmenes de solución madre de oxalato. Guarde en frascos con tapa de vidrio.

1.2.- Safranina.

Safranina O 2.5 g.

Alcohol etílico de 95 100.0 ml.

Solución para empleo inmediato: Diluir la safranina madre en proporción 1:5 ó 1:10 con agua destilada; guardar en frasco con tapón de vidrio.

1.3.- Lugol. (Solución de yodo Gram)

Cristales de yodo 1.0 g.

Yoduro de potasio 2.0 g.

**Disolver completamente en 5 ml. de agua destilada y
agregar:**

Agua destilada 240.0 ml.

**Bicarbonato de sodio,
solución acuosa al 5%** 60.0 ml.

**Mezclar bien; guardar en un frasco de vidrio de color
oscuro.**

1.4.- Verde de Malaquita.Solución acuosa saturada.

Nota: Solubilidad en agua 7.6% a 26°C

Verde de malaquita 7.6 g.

Agua destilada 100.0 ml.

1.5.- Safranina 0.25%

Safranina O 0.25 g.

Agua destilada. 100.0 ml.

2. REACTIVOS.

2.1.-Reactivos de Kovac.	00
Alcohol n-amílico	75.0 ml.
Ac. clorhídrico concentrado	25.0 ml.
Para-Dimetilamino benzaldehído	5.0 g.
Disolver el aldehído en el alcohol por calentamiento ligero en un baño de agua a 50-55°C. Enfriar y añadir el ácido. Protéjase de la luz. Almacenar a 4°C.	

2.2.- Rojo de Metilo.

Solución A

Rojo de metilo	0.1 g.
Alcohol etílico 95%	300.0 ml.
Hidróxido de sodio N/20	15.0 ml.
Añadir agua destilada a la solución A y obtener un volumen total de 500 ml.	

2.3.-Alfa Naftol 5%

Alfa Naftol	5.0 g.
Alcohol etílico 95%	100.0 ml.

2.4.-Hidróxido de potasio 40%

Hidróxido de potasio	40.0 g.
Agua destilada	100.0 ml.

2.5.-DimetilAlfa Naftilamina 0.6%

Dimetil alfa-naftilamina	6.0 g.
Acido acético 5 N	1000.0 ml.
Disolver con calentamiento ligero.	

2.6.-Acido Sulfanílico 0.8%

Acido Sulfanílico	8.0 g.
Acido acético 5 N	1000.0 ml.
Disolver por calentamiento ligero.	

2.7.-Fenolftaleína 0.5%

Fenolftaleína	0.5 g.
Alcohol etílico	100.0 ml.

2.8.-Lugol

Yodo	50.0 g.
Yoduro de potasio	100.0 g.
Agua destilada	1000.0 ml.

Mezclar el yodo y el yoduro de potasio en un mortero y triturar con la mano del mortero hasta que estén finamente pulverizados. Añadir agua destilada en

**pequeñas porciones para ir disolviendo componentes.
Verter la solución en una probeta, lavar el mortero con
agua destilada y añadir los líquidos de lavado también a
la probeta y completar los 1000 ml. Mezclar bien.**

2.9.-Solución Buffer de Fosfatos pH 6.0

Fosfato diácido de potasio 3.0 g.

Fosfato monoácido de potasio 3H₂O 0.6 g.

Agua destilada 1000.0 ml.

**Disolver en una pequeña cantidad de agua destilada y
aforar a un litro.**

2.10.- Oxibac.

Para limpieza de equipo y maquinaria:

30 ml. de Oxibac por cada 10 litros de agua.

Para desinfección de paredes y pisos:

75 ml. de oxibac por cada 10 litros de agua destilada.

2.11.- Solución Buffer de Fosfatos para extracción.

Fosfatos diácido de potasio 1.5 g.

Fosfato monoácido de potasio 3H₂O 3.5 g.

Agua destilada Aforar a 1000.0 ml.

2.12.- Cloruro de calcio 20%

Cloruro de calcio dihidratado	20.0 g.
Agua destilada	100.0 ml.

2.13.- Suero Fisiológico.

Solución acuosa de cloruro de sodio al 0.85%

NaCl	0.85 g.
Agua destilada	100.0 ml.

2.14.- Solución Buffer de Fosfatos pH 6.0 (Wilson-Ingledew)

Fosfato diácido de potasio	0.05 M
NaOH	0.05 M

Mezclar las soluciones A y B hasta que den un pH de 6.0

2.15.- Almidón Soluble 0.2% (Wilson-Ingledew)

Almidón soluble Merck **0.2 g.**

Solución buffer de fosfatos pH 6.0 **100.0 ml.**

Mezclar el almidón con la solución buffer y calentar a ebullición. Posteriormente se enfriá a la temperatura que se requiere para la determinación enzimática.

2.16.- Solución Stock de Iodo (Wilson-Ingledew)

Yodo al 0.5% en una solución de yoduro de potasio al 5% en agua destilada.

2.17.- Reactivo de Yodo (Wilson-Ingledeew)

Solución Stock de Yodo **1.0 ml.**

Agua destilada **500.0 ml.**

**El agua destilada debe ser previamente acidificada con
ácido clorhídrico 5N.**

2.18.- Acido Clorhídrico 5N.

Acido clorhídrico sp.gr. 1.19 **411.8 ml.**

Agua destilada Aforar a **1000.0 ml.**

2.19.- Acido Clorhídrico 1N.

Acido clorhídrico sp.gr. 1.19 **82.36 ml.**

Agua destilada Aforar a **1000.0 ml.**

2.20.- Hidróxido de Sodio 1N.

**Se disuelven 100 g de lentejas de hidróxido de sodio puro
en 100 ml de agua destilada. Se tapa el matraz y se deja
reposar toda la noche a temperatura ambiente. El
carbonato se separa en forma de un precipitado
insoluble. Se filtra la solución.**

Hidróxido de sodio libre de carbonato 50.0 ml

Agua destilada libre de carbonato.

Aforar a **1000.0 ml.**

2.21.- Fenol 5%

Fenol (reactivo analítico)	5.0 g
Agua destilada	100.0 ml.

2.22.- Ácido sulfúrico concentrado sp.gr. 1.84

2.23.- Reactivo de Somogyi de baja alcalinidad.

Disolver 12g de sal de Rochelle y 24 g de Na₂CO₃ en 250 ml de agua previamente hervida. Disolver , con agitación, 4.0 g de CuSO₄.5H₂O en 50 ml de agua, seguido de 16 g de NaHCO₃. Hervir agua destilada para eliminar el aire, enfriar y disolver 180 g de Na₂SO₄ anhidro y agregarlo a la solución de cobre alcalina; agregar agua destilada hervida hasta completar un litro. El reactivo es almacenado a 37°C durante una semana antes de usarse, y decantado para separar cualquier precipitado que se forme; de esta manera, el reactivo es estable.

2.24.- Reactivo de arsenomolibdato de Nelson.

Disolver 25 g de molibdato de amonio en 450 ml de agua y agregar 21 ml de H₂SO₄ al 96%, seguido de una solución de Na₂HAsO₄.7H₂O (3.0 g en 25 ml de agua). La mezcla es incubada durante 24 horas a 37°C y almacenada en un frasco de vidrio café.

3. MEDIOS DE CULTIVO.

[1] Medio de propagación.

(TETRAUT-STARK, 1954)

Tripticasa (casitone)	1.0 g.
Extracto de levadura	0.5 g.
Agua destilada	100.0 ml.
Ajustar el pH a 6.8 - 7.2	

[2] Medio de producción.

(TETRAUT-STARK, 1954)

Tripticasa (casitone)	2.0 g.
Extracto de levadura	2.0 g.
Almidón soluble	0.1 g.
Agua destilada	100.0 ml.
Ajustar el pH 6.8 - 7.2	

[3] Variante del medio anterior.

(TETRAUT-STARK, 1954)

Tripticasa (casitone)	-- 2.0 g.
Extracto de levadura	2.0 g.
Almidón soluble	0.1 g.
Agua destilada	100.0 ml.
Ajustar el pH a 6.0, 7.0 y 8.0 según se requiera.	

[4] Almidón - Peptona de carne.

Peptona de carne Sigma	2.8 g.
Almidón soluble Merck	1.0 g.
CaCO₃	0.01 g.
Buffer fosfatos pH 6.0 0.05M	100.0 ml.

[5] Maltosa - Peptona de carne.

Peptona de carne Sigma	2.8 g.
CaCO₃	0.01 g.
Buffer fosfatos pH 6.0	100.0 ml.
Maltosa esterilizada por filtración	0.2 g.

Nota: Agregar la solución de maltosa después de esterilizar el medio de cultivo.

[6] Almidón - Peptona de soya.

Peptona de soya (soytone Merck)	4.32 g. - 5.0 g.
Almidón soluble Merck	1.0 g.
CaCO₃	0.01 g.
Buffer fosfatos pH 6.0	100.0 ml.

[7] Maltosa - Peptona de soya.

Peptona de soya (soytone)Merck	4.32 g. - 5.0 g.
Maltosa (esterilizada por separado)	0.2 g.
CaCO₃	0.01 g.
Buffer fosfatos pH 6.0	100.0 ml.

[8] Almidón - Caseína (hidrolizado enzimático).

Peptona de caseína Merck	5.8 g. - 6.0 g.
Almidón soluble Merck	1.0 g.
CaCO₃	0.01 g.
Buffer fosfatos pH 6.0	100.0 ml.

[9] Maltosa - Caseína (hidrolizado enzimático).

Peptona de caseína Merck	5.8 g. - 6.0 g.
Maltosa (esterilizada por separado)	0.2 g.
CaCO₃	0.01 g.
Buffer fosfatos pH 6.0	100.0 ml.

[10] Almidón - Extracto de Levadura.

Extracto de levadura	5.0 g.
Almidón soluble Merck	1.0 g.
CaCO₃	0.01 g.
Buffer fosfatos pH 6.0	100.0 ml.

[11] Maltosa - Extracto de Levadura.

Extracto de levaduras	5.0 g.
Maltosa (esterilizada por separado)	0.2 g.
CaCO₃	0.01 g.
Buffer fosfatos pH 6.0	100.0 ml.

[12] Almidón - Harina de soya.

Harina de soya	5.0 g.
Almidón soluble Merck	1.0 g.
CaCO₃	0.01 g.
Buffer fosfatos pH 6.0	100.0 ml.

[13] Almidón - Harina de trigo.

Harina de trigo	5.0 g.
Almidón soluble Merck	1.0 g.
CaCO₃	0.01 g.
Buffer fosfatos pH 6.0	100.0 ml.

[14] Almidón - Casaminoácidos

Casaminoácidos	6.0 g.
Almidón soluble Merck	1.0 g.
CaCO₃	0.01 g.
Buffer fosfatos pH 6.0	100.0 ml.

[15] Maltosa - Casaminoácidos.

Casaminoácidos	6.0 g.
Maltosa (esterilizada por separado)	0.2 g.
CaCO₃	0.01 g.
Buffer fosfatos pH 6.0	100.0 ml.

[16] Almidón - Harina de soya - Buffer,

Harina de soya	5.0 g.
Almidón soluble Merck	1.0 g.
CaCO₃	10.0 mg.
Buffer fosfatos pH 7.0	50.0 ml.

[17] Almidón - Harina de soya - Agua potable.

Harina de soya	5.0 g.
Almidón soluble Merck	1.0 g.
CaCO₃	10.0 mg.
K₂HPO₄	0.175 g.
KH₂PO₄	0.175 g.
Agua potable	50.0 ml.

[18] Maltosa - Harina de soya - Buffer.

Harina de soya	5.0 g.
Maltosa (solución estéril 20%)	0.5 ml.
CaCO₃	10.0 mg.
Buffer fosfatos pH 7.0	50.0 ml.

[19] Maltosa - Harina de soya - Agua potable.

Harina de soya	5.0 g.
Maltosa (Solución estéril al 20%)	0.5 ml.
CaCO₃	10.0 mg.
KH₂PO₄	0.075 g.
K₂HPO₄	0.175 g.
Agua potable	50 .0 ml.

X.- BIBLIOGRAFIA

anterior

X BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Aiba, S., A. E. Humphrey y N. F. Millis. 1973, Biochemical Engineering, 2nd. ed. Academic Press, Inc. New York.
- 2.- Aiba, S., K. Kitai y T. Imanaka. 1983. Cloning and expression of thermostable alpha-amylase gene from *Bacillus stearothermophilus* in *Bacillus stearothermophilus* and *Bacillus subtilis*. *Appl. Environ. Microbiol.* 46(5):1059-1065.
- 3.- Aiba, S., M. Zhang y M. K. Ohnishi. 1987, Production of alpha-amylase in transformant of *Bacillus stearothermophilus* improvement of recombinant plasmid that can be used at higher temperatures. *Biotechnol. Bioeng.* 30(8):978.
- 4.- Alam, S., J. Hong y W. A. Weigand. 1989. Effect of yeast extract on alpha-amylase synthesis by *Bacillus amyloliquefaciens*. *Biotech. Bioeng.* 33:780-785.
- 5.- Andersson, E. y B. Hahn-Hägerdal. 1988. High concentrations of PEG as a possible uncoupler of the proton motive force: alpha-amylase production with *Bacillus amyloliquefaciens* in aqueous two-phase systems and PEG solutions. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 29:329-336.
- 6.- Andersson, E., A. C. Johansson y B. Hahn-Hägerdal. 1985. Alpha-amylase production in aqueous two-phase systems with *Bacillus subtilis*. *Enzyme Microbiol. Technol.* 7(7):333-338.
- 7.- Anuario Estadístico del Comercio Exterior de los Estados Unidos Mexicanos. 1990. Importación. Tomo II. INEGI.
- 8.- Baig, M. A., J. Pazlarova y J. Votruba. 1984. Kinetics of alpha-amylase production in a batch and fed-batch culture of *Bacillus subtilis*. *Folia Microbiol.* 29(5):359-364.
- 9.- Bailey, M. J. y P. H. Markkanen. 1975. Use of mutagenic agents in improvement of alpha-amylase production by *Bacillus subtilis*. *J. appl. Chem. Biotechnol.* 25:73-79.

- 10.- Bailey, J. E. y D. F. Ollis. 1977. Biochemical Engineering Fundamentals. Mc. Graw Hill Kogakusha, LTD.
- 11.- Bajpai, P. y K. Bajpai. 1989. High temperature alkaline amylase from *Bacillus licheniformis*. Biotechnol. Bioeng. 33(1):72-78.
- 12.- Bajpai, P. y U. Sharma. 1989. Production of alpha-amylase in a low cost medium by *Bacillus licheniformis* TCRDC-B13. J. Ferment. Bioeng. 67(6):422-423.
- 13.- Banasik, O. J. 1971. Automated analysis of malt diastasic power and alpha-amylase activity. Wallerstein Lab. Commun. 34(113):45-52.
- 14.- Belakhov, V. V. y N. N. Momot. 1984. Design of equipment for the immobilization of alpha-amylase by a carboxylic exchanger. Khim.-Farm. Zh. 18(8):980-982.
- 15.- Bridson, E. Y. y A. Brecker. 1970. Design and formulation of microbial culture media, p. 229-295. En J. Norris y D. Ribbons (ed.), Methods in microbiology, vol. 3A. Academic Press, Inc. New York.
- 16.- Casida, L. E. 1964. Industrial Microbiology. John Wiley and Sons, Inc. New York.
- 17.- Chambliss G. H., W. L. Nicholson y M. J. Weickert. 1989. Regulation of *Bacillus subtilis* alpha-amylase synthesis glucose catabolite repression elimination by cis, trans mutation. (Conference abstract). Folia Microbiol. 34(5):364.
- 18.- Chandra, A. K., S. Medda y A. K. Bhadra. 1980. Production of extracellular thermostable alpha-amylase by *Bacillus licheniformis*. J. Ferment. Technol. 58(1):1-10.
- 19.- Chevalier, P. y J. De la Noue. 1987. Enhancement of alpha-amylase production by immobilized *Bacillus subtilis* in an airlift fermentor. Enzyme Microbiol. Technol. 19(1):53-56.
- 20.- Cherney, J. H. 1989. Use of 2-ethoxyethanol and alpha-amylase in the neutral detergent fiber method of feed analysis. J. Dairy Sci. 72(11):3079-3084.
- 21.- Collin, C. H. 1969. Métodos Microbiológicos. Editorial Acribia. Zaragoza (España).

- 22.- Cowan, S. T. 1974. Cowan-Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria, 2nd ed. Cambridge University Press.
- 23.- Crowe, N. L., I. Alli y B. E. Baker. 1985. Solubilization of Nitrogenous Constituents of Brewer's Spent Grain. J. Inst. Brew. 91:148-150.
- 24.- Dancer, B. N. y J. Mandelstam. 1975. Criteria for categorizing early biochemical events occurring during sporulation of *Bacillus subtilis*. J. Bacteriol. 121:411-415.
- 25.- Dawson Peter. 1972. Continuous synchronous culture-The production of extracellular enzymes by continuous phased culture of *Bacillus subtilis*. Proc. IV IFS: Ferment. Technol. Today 121-128.
- 26.- Dhawale, M. R., J. J. Wilson y G. G. Khachatourians. 1982. Improved method for detection of starch hydrolysis. Appl. Environ. Microbiol. 44(3):747-750.
- 27.- Difco Laboratories Incorporated. 1953. The Difco Manual of dehydrated culture media and reagents for microbiological and clinical laboratory procedures. 9th ed.; Difco Laboratories Incorporated. Detroit, Mich.
- 28.- Emanuilova, E. I. y K. Toda. 1984. Alpha-amylase production in batch and continuous cultures by *Bacillus caldolyticus*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 19(5):301-305.
- 29.- Faith, W. T., C. E. Neubeck y E. T. Reese. 1971. Production and application of enzymes. Adv. Biochem. Eng. 1:77-111.
- 30.- Fujio, Y., P. Suyanadona, P. Attasampunna y S. Ueda. 1984. Alcoholic fermentation of raw cassava starch by *Rhizopus koji* without cooking. Biotechnol. Bioeng. 27:315-319.
- 31.- Gandhi, A. P. 1982. Studies on the production of alpha-amylase by *Bacillus subtilis* growing in the batch and chemostat cultures. J. Food Science and Technology 19:177-180.
- 32.- Ghildyal, N. P., P. Prema, S. Srikanta, K. R. Sreekanth and S. Y. Ahmed. 1980. Studies on the production of alpha-amylase in submerged culture. J. Food Science and Technology 17:165-167.

- 33.- Ghosh, S. B. y A. K. Chandra. 1981. Alpha-amylase by *Bacillus apiarius* CBML152, production of thermostable alpha-amylase by *Bacillus apiarius* CBML 152. *Adv. Biotechnol. (Proc. Int. Ferment. Symp. 6th)*. 3:313-321.
- 34.- Gibbs, B. M. y D. A. Shapton. 1968. Identification methods for microbiologists: Part B, (2). Society for Applied Bacteriology Technical Series. Academic Press, Inc. New York.
- 35.- Gibson, T. y R. E. Gordon. 1975. Endospore-forming rods and cocci, p. 529-575. En R. E. Buchanan and N. E. Gibbons (ed.), *Bergey's manual of determinative bacteriology*, 8th ed. The Williams & Wilkins Co., Baltimore.
- 36.- Gunsalus, I. C. y R. Y. Stainer. 1960. The bacteria. A treatise on structure and function. Vol. II. Metabolismo. Academic Press, Inc. New York.
- 37.- Gunsalus, I. C. y R. Y. Stainer. 1962. The bacteria. A treatise on structure and function. Vol. III. Biosynthesis. Academic Press, Inc. New York.
- 38.- Guo Y, F. Lou, Z. Peng, Z. Yuan y R. A. Korus. 1990. Kinetics of growth and alpha-amylase production of immobilized *Bacillus subtilis* cells in an airlift bioreactor. *Biotechnol. Bioeng.* 35(1):99-102.
- 39.- Gutcho, S. J. 1974. Microbial Enzyme Production. Immobilized and Engineering Techniques. *Chemical Technology, Review No.28*. Noyes Data Corporation.
- 40.- Hang, Y. D., D. F. Splittstoesser y E. E. Woodams. 1975. Utilization of brewery grain liquor by *Aspergillus niger*. *Appl. Microbiol.* 30(5):879-880.
- 41.- Herbert, D., P. J. Phipps y R. E. Strange. 1971. Chemical analysis of microbial cells, p. 214-216, 272-278. En J. Norris y D. Ribbons (ed.), *Methods in microbiology*, vol. 5B. Academic Press, Inc. New York.
- 42.- Hudson, J. R. 1972. Recent Changes in brewing technology. *Proc. IV I.F.S.: Ferment. Technol. Today*, p. 629-632.

- 43.- Hwang, P. T. 1973. Alpha-amylase production by *Bacillus subtilis*. Taiwan Sugar 20(5):189-192.
- 44.- Kanno, M. 1986. A *Bacillus acidocaldarius* alpha-amylase that is highly stable to heat under acidic conditions. Agric. Biol. Chem. 50(10):2633-2635.
- 45.- Kallio, P., A. Palva y I. Palva. 1987. Enhancement of alpha-amylase production by integrating and amplifying the alpha-amylase gene of *Bacillus amyloliquefaciens* in the genome of *Bacillus subtilis*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 27:64-71.
- 46.- Kim, J., T. Nanmori y R. Shinke. 1989. Thermostable, raw-starch-digesting amylase from *Bacillus stearothermophilus*. Appl. Environ. Microbiol. 55(6):1638-1639.
- 47.- Komaki, T. 1968. Studies on enzymatic liquefaction and saccharification of starch. Part IV.- Preparation and properties of insoluble starch particle remained in saccharified liquid of starch after treatment with bacterial alpha-amylase and glucoamylase. Agric. Biol. Chem. 32(2):123-129.
- 48.- Krishnan, T. y A. K. Chandra. 1982. Effect of oil cakes on alpha-amylase production by *Bacillus licheniformis* CUMC 305. Appl. Environ. Microbiol. 44(2):270-274.
- 49.- Krishnan, T. y A. K. Chandra. 1983. Correlation between alpha-amylase production and sporulation in *Bacillus licheniformis* CUMC 305 with respect to the effect of some carbohydrates and phenylmethylsulfonyl fluoride treatment. Zentralbl. Mikrobiol. 138(6):475-485.
- 50.- Krishnan, T. y A. K. Chandra. 1983. Purification and characterization of alpha-amylase from *Bacillus licheniformis* CUMC 305. Appl. Environ. Microbiol. 46(1):430-437.
- 51.- Lehninger, A. L. 1979. Bioquímica, 2a. ed. Ediciones Omega, S. A., Barcelona.

- 52.- Lenders, J. P. y R. R. Crichton. 1984. Thermal stabilization of amylolytic enzymes by covalent coupling to soluble polysaccharides. *Biotechnol. Bioeng.* 36:1343-1351.
- 53.- Linton, J. M. y I. R. Sibald. 1971. The acceptability of mixtures of spent yeast and brewer's grains as components of cattle diets. *Brew. Dig.* 56(3):58.
- 54.- Lloyd, N. E., R. E. Lodge y R. A. Wynes. 1974. U. S. Patent 3,524,798 August 18, 1970. Assigned to Standard Brands, Inc. En S. J. Gutcho, Microbial enzyme production. Noyes Data Corporation.
- 55.- Loginova, L. G., I. A. Tsaplina, M. Beshkov, P. Kosturkova, A. Tonkova y E. Emanuilova. 1989. On the alpha-amylase and proteolytic production of a thermophilic strain of *Bacillus brevis* 174. *Dokl. Bolg. Akad. Nauk.* 42(6):89-91.
- 56.- Mahmoud, S. A. Z., S. M. Taha, R. M. Attia y S. H. El Gammal. 1975. Studies on carbon and nitrogen sources for commercial production of bacterial alpha-amylase. *Rev. Microbiol.* 6(4):73-76.
- 57.- Malik, Muhammad Afzal y Chaudhary, Mahmood Islam. 1977. Effect of carbon source on the production of alpha-amylase. *Pak. J. Biochem.* 10(1):14-18.
- 58.- Manonmani, H. K., T. R. Shamala y K. R. Sreekantiah. Development of an alpha-amylase production medium by utilizing agro-industrial wastes, *J. Food Science and Technol.* 20(july-august):168-171.
- 59.- Markkanen, P. H. y M. J. Bailey. 1974. Simultaneous production of alpha-amylase, beta glucanase, and proteolytic enzymes by *Bacillus subtilis*. *J. appl. Chem. Biotechnol.* 24:93-103.
- 60.- Markkanen, P. H. y M. J. Bailey. 1975. Effect of aeration and temperature on production of alpha-amylase by *Bacillus subtilis*. *J. Appl. Chem. Biotechnol.* 25:863-865.
- 61.- Markkanen, P. H. y T. M. Enari. 1972. Effect of phosphate on alpha-amylase production and sporulation by *Bacillus subtilis*. *Acta Chem. Scand.* 26(9):3543-3548.

- 62.- Mathewson, P. R. y Y. Pomeranz. 1981. Rapid analysis of alpha-amylase in barley malts using a colorimetric assay. *Brew. Dig.* 56(10):24-26.
- 63.- Merck, E. 1985. Manual de medios de cultivo Merck. Frankfurter Strasse 250, D-6100 Darmstadt 1 (R. F. de Alemania).
- 64.- Meyrath, J. y G. Suchanek. 1972. Inoculation techniques. Effect due to quality and quantity of inoculum. p. 160-209. En J. Norris y D. Ribbons (ed.), *Methods in microbiology*, vol. 7B. Academic Press, Inc. New York.
- 65.- Miller, B. M. y W. Litsky. 1976. *Industrial microbiology*. Mc. Graw Hill, Inc.
- 66.- Moat, A. G. 1979. *Microbial physiology. " A Wiley-Interscience publication"*. John Wiley & Sons, Inc. New York.
- 67.- Montville, T. J. 1983. Dual-sustrate plate diffusion assay for proteases. *Appl. Environ. Microbiol.* 45:200-204.
- 68.- Mukhopadhyay, A., S. K. Chakrabarti y P. K. Bajpai. 1990. Treatment and clarification of fermented broth in bacterial enzyme production alpha-amylase production by *Bacillus* sp. ; purification by flocculation. *Biotechnol. Tech.* 4(2):121-126.
- 69.- Ory, R. L. y A. J. St. Angelo (editors). 1977. *Enzymes in food and beverage processing*. ACS Symposium Series 47. American Chemical Society. VanNostrand Reinhold (U.K.) Co. Ltd.
- 70.- Park, Y. K. y B. C. Rivera. 1982. Alcohol production from various enzyme converted starches with or without cooking. *Biotechnol. Bioeng.* 24:495-500.
- 71.- Pazlarova, J., M. A. Baig y J. Votruba. 1984. Kinetics of alpha-amylase production in a batch and fed-batch culture of *Bacillus subtilis* with caseinate as nitrogen source and starch as carbon source. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 20(5):331-334.

- 72.- Pollock, M. R. 1964. Exoenzymes, p. 121-178. En I. C. Gunsalus y R. Y. Stainer (ed), The bacteria, vol. IV. Academic Press Inc., New York.
- 73.- Prescott, S. C. y C. G. Dunn. 1962. Microbiología Industrial. 3a. ed. Editorial Aguilar.
- 74.- Priest, F. G. 1977. Extracellular enzyme synthesis in genus *Bacillus*. Bacteriol. Rev. 41(3):711-753.
- 75.- Priest, F. G. 1984. Aspects of microbiology 9, Extracellular enzymes. American Society for Microbiology. J. A. Cole, C. J. Knowles y D. Schlessinger (Coordinating eds.). VanNostrand Reinhold (U.K.) Co. Ltd. Wokingham.
- 76.- Prit, S. J. 1975. Principles of microbe and cell cultivation. Blackwell Scientific Publications.
- 77.- Qadeer, M. A., J. I. Anjum y R. Akhtar. 1980. Biosynthesis of enzymes by solid substrate fermentation. II. Production of alpha-amylase by *Bacillus subtilis*. Pak. J. Sci. Ind. Res. 23(1-2):25-29.
- 78.- Ramesh, M. V. y B. K. Lonsane. 1990. Critical importance of moisture content of the medium in alpha-amylase production by *Bacillus licheniformis* M27 in a solid-state fermentation transfer and techno-economic implications. Appl. Microbiol. Biotechnol. 33(5):501-505.
- 79.- Ramgren, M., E. Andersson y B. Hahn-Hägerdal. 1988. Alpha-amylase production with *Bacillus subtilis* in presence of PEG and surfactants. Appl. Microbiol. Biotechnol. 29(4):337-340.
- 80.- Rehana, F., P. Venkatasubbaiah y K. Nand. 1989. Preliminary studies on the production of thermostable alpha-amylase by a mesophilic strain of *Bacillus licheniformis*. Chem. Mikrobiol., Technol. Libensm. 12(1):8-13.
- 81.- Ribbons, D. W. 1970. Quantitative relationship between growth media constituents and cellular yields and composition, p 297-304. En J. Norris y D. Ribbons (ed.), Methods in microbiology, vol. 3A. Academic Press, Inc. New York.

- 82.- Ronald, W. J. 1974. Industrial starches. Noyes Data Corporation.
- 83.- Roychoudhury, S., S. J. Parulekar y W. A. Weigand. 1989. Cell growth and alpha-amylase production characteristics of *Bacillus amyloliquefaciens*. Biotechnol. Bioeng. 33:197-206.
- 84.- Schramm, M. y A. Loyter. Purification of alpha-amylase by precipitation of amylase-glycogen complexes, p 533-537. En E. F. Neufeld y V. Ginsburg (ed.) Complex Carbohydrates S. P. Colowick y N. O. Kaplan (eds) Methods in Enzymology Vol. VIII.
- 85.- Scriban, R. 1985. Biotecnología. Editorial El Manual Moderno, S. A. de C. V. México, D. F.
- 86.- Seeley, H. W. y P. J. Vandermark. 1975. Microbios en acción. Manual de laboratorio para microbiología. 2a. ed. Editorial Blume.
- 87.- Sillis, A. M. y G. G. Stewart. 1982. Production of amyloytic enzymes by several yeast species. J. Inst. Brew. 88:313-316.
- 88.- Srivastava, R. A. K. y J. N. Baruah. 1986. Culture conditions for production of thermostable amylase by *Bacillus stearothermophilus*. Appl. Environ. Microbiol 52(1):179-184.
- 89.- Srivastava, R. A. K., J. N. Nigam, K. R. Pillai y J. N. Baruah. 1981. Production of extracellular high heat-stable amylase by thermophilic *Bacillus* sp. Indian J. Microbiol. 21(2):131-139.
- 90.- Stainer, R. Y., E. A. Adelberg y J. L. Ingraham. 1976. The microbial world. 4th ed. Prentice Hall, Inc. New Jersey.
- 91.- Suzuki, Y., N. Ito, T. Yuuki, H. Yamagata y S. Ueda. 1989. Amino acid residues stabilizing a *Bacillus* alpha-amylase against irreversible thermoinactivation. J. Biol. Chem. 294(32):18933-18938.
- 92.- Takagi, T., H. Toda y T. Isemura. 1971. Bacterial and mold amylases, p. 235-271. En P. D. Boyer (ed), The enzymes, vol V. Academic Press Inc., New York.
- 93.- Terui, G. 1972. Fermentation Technology Today. Society of Fermentation Technology, Japan.

- 94.- Tetraut, P. A. y E. U. Stark. 1974. U. S. Patent 2,695,863 (1954)
Assigned to Purdue Research Foundation. En S. J. Gutcho,
Microbial enzyme production. Noyes Data Corporation.
- 95.- Thatcher, F. S. y D. S. Clark. 1973. Análisis microbiológico de los
alimentos. Editorial Acribia, Zaragoza (España).
- 96.- The practical Brewer. 1977. A manual for the brewing industry.
2nd. ed. Master Brewers Association of The Americas.
- 97.- Ueda, S., C. T. Zenin, D. A. Monteiro y Y. K. Park. 1981.
Production of ethanol from raw cassava starch by a non
conventional fermentation method. Biotechnol. Bioeng.
23:291-299.
- 98.- Urabe I, H. Nanjo y H. Okada. 1973. Effect of acetylation of
Bacillus subtilis alpha-amylase on the kinetics heat
inactivation. Biochim. Biophys. Acta. 302(1):73-79.
- 99.- Vadeavella, C. V. y E. J. Del Rosario. 1981. Alpha-amylase
production in shake flask culture of *Bacillus subtilis* NRRL
3411. Bull. Philipp. Biochem. Soc. 4(1-2):45-55.
- 100.- Varella, B. R. V. Concone, J. T. Senise y R. A. Doin. 1984.
Continuous enzymatic cooking and liquefaction of starch.
using the technique of direct resistive heating. Biotechnol.
Bioeng. 26:654-657.
- 101.- Wang, D. I. C., C. L. Cooney, A. L. Demian, P. Dunnill, A. E.
Humphrey y M. D. Lilly. 1979. Fermentation and enzyme
technology. John Wiley & Sons, Inc. New York.
- 102.- Wieg J., J. Hall y P. Varga. 1969. Brewing beer with enzymes.
Process Biochem. 33:38.
- 103.- Wei, D., S. J. Parulekar, B. Stsrk y W. A. Weigand. 1989.
Plasmid stability and alpha-amylase production in batch and
continuous cultures of *Bacillus subtilis* TN106(pAT5).
Biotechnol. Bioeng. 33(8):1010.
- 104.- Weickert, M. J. y G. H. Chambliss. 1989. Genetic analysis of the
promoter region of the *Bacillus subtilis* alpha-amylase. J.
Bacteriol. 171(7):3656-3666.

- 105.- Wilson, J. J. y W. M. Ingledew. 1982. Isolation and characterization of *Schwanniomyces alluvius* amylolytic enzymes. *Appl. Environ. Microbiol.* 44(2):301-307.
- 106.- Wilson, J. J., G. G. Khachatourians y W. M. Ingledew. 1982. *Schwanniomyces* : SCP and ethanol from starch. *Biotechnol. Letters.* 4(5):333-338.
- 107.- Wynes, R. A. y N. E. Lloyd. 1974. U. S. Patent 3,414,479 December 3, 1968. Assigned to Standard Brands, Inc. *En* S. J. Gutcho, Microbial enzyme production. Noyes Data Corporation.
- 108.- Yoneda, Y, K. Yamane y B. Maruo. 1973. Membrane mutation related to the production of extracellular alpha-amylase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 50(3):765-770.
- 109.- Yoo, Y. J., T. W. Cadman, J. Hong y R. T. Hatch. 1981. Fed-batch fermentation for the production of alpha-amylase by *Bacillus amyloliquefaciens*. *Biotechnol. Bioeng.* 31:426-432.
- 110.- Zhang, Q., N. Tsukagoshi, S. Miyashiro y S. Udaka. 1983. Increased production of alpha-amylase by *Bacillus amyloliquefaciens* in the presence of glycine. *Appl. Environ. Microbiol.* 46(1):293-295.

taller de encuadernación
ENCUADERNACIONES PROFESIONALES

Tacuba N°1645 Ote.entre Félix U.Gómez y Héroes del 47
Tel.44-65-25 Monterrey, Nuevo León

**BIBLIOTECA, DIVISION
ESTUDIOS SUPERIORES**

