

CARACTERIZACION DE CARBOXIL ESTER HIDROLASAS PRODUCIDAS POR DOS ARQUEAS HALOFILAS: *Haloarcula marismortui* Y *Halobacterium* sp. NRC-1

Rosa Camacho, Juan Carlos Mateos, Orfil González, Jesús Córdova

Universidad de Guadalajara. Depto. de Ing. Química. García Barragán 1421, 44480 Guadalajara, Jal. jesuscordovaudg@yahoo.com.mx

Palabras clave: extremófilos, haloarqueas, lipasas y esterases.

Introducción. Las esterases y lipasas son enzimas de gran interés industrial, debido a que en medios no acuosos catalizan reacciones de síntesis de compuestos tales como fármacos, alimentos, cosméticos, etc. (1). Las arqueas halófilas adaptadas a desarrollarse en ambientes altamente salinos en los que la actividad de agua es muy baja, son consideradas como fuentes de biocatalizadores activos en medios no acuosos, sin embargo existen pocos estudios relacionados con la caracterización de esterases provenientes de estos microorganismos (2,3).

El objetivo de este trabajo fue estudiar la influencia de la temperatura, de la concentración de NaCl y del pH, sobre la actividad esterasa en los extractos crudos intracelulares de *Haloarcula marismortui* y *Halobacterium* sp.

Metodología. Se evaluó el efecto de la temperatura (de 20 a 80 °C), la concentración de NaCl (de 0 a 5 M) y el pH (de 5 a 9) sobre la actividad esterasa de los extractos crudos intracelulares de ambas haloarqueas. Se monitoreó la hidrólisis de *p*-nitrofenil butirato para *Halobacterium* y *p*-nitrofenil valerato para *H. marismortui*. La actividad enzimática fue determinada midiendo la liberación de *p*-nitrofenol a 410 nm, debido a la hidrólisis del *p*-nitrofenil éster (4). 1 U = 1 μmol/min.

Resultados y discusión. Los extractos crudos intracelulares de ambas haloarqueas mostraron un máximo de actividad esterasa en función de la temperatura: 80°C para *Halobacterium* y 45°C para *H. marismortui* (Fig 1). La mayoría de las enzimas extraídas de arqueas halófilas presentan máximos de actividad entre 50 y 60 °C, por lo que la esterasa de *Halobacterium* es excepcionalmente termoestable. En el caso de la concentración de NaCl, se pueden observar dos máximos de actividad, a 1 M y a 5 M para *Halobacterium* y a 0.5 M y entre 3 y 5 M para *H. marismortui*. Ambos microorganismos presentaron dos máximos de actividad a pH 6 y 7.5. Nuestros resultados fueron ventajosamente comparables con la lipasa de *Natronococcus* sp., la cual mostró una temperatura máxima de hidrólisis de 50 °C a 4 M de NaCl y pH 7 (2) y con las esterases de cinco cepas de arqueas halófilas, provenientes de ambientes hipersalinos en Turquía, cuyos valores máximos de actividad enzimática fueron alcanzados a 50°C, 4 M de NaCl y pH de 8 a 8.5 (3).

Conclusiones. La esterasa de *Halobacterium* sp. mostró una termoestabilidad superior a todas las esterases reportadas de arqueas halófilas. Los dos picos de actividades máximas, obtenidos para los extractos

crudos de ambas haloarqueas, incubados a diferentes concentraciones de sal y pH, sugieren la presencia de dos enzimas con actividad esterasa para cada arquea. Las enzimas fueron activas en condiciones salinas extremas (5 M de NaCl), por lo que su aplicación en síntesis, en sistemas con baja actividad de agua, es factible, ya que pueden ser consideradas como biocatalizadores robustos.

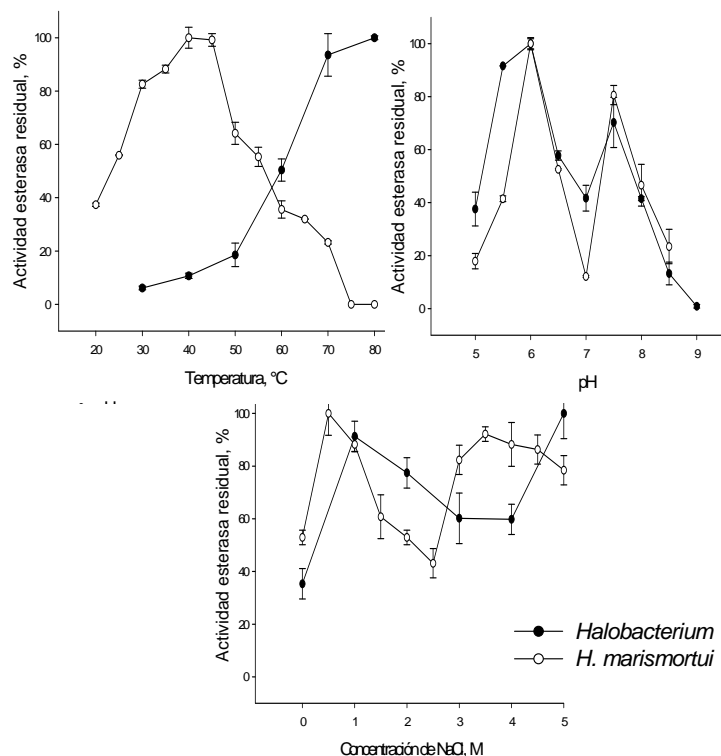


Fig. 1. Efecto de la temperatura (a 4M de NaCl y pH 7.5), del pH (a 2M de NaCl y 30°C) y de la concentración de NaCl (a 30°C y pH 7.5) sobre la actividad enzimática.

Agradecimiento. Rosa Camacho agradece la beca de doctorado de CONACYT.

Bibliografía.

- Jaeger, K.E. y Eggert, T. (2002). Lipases for biotechnology. *Curr Opin Biotechnol.* 13: 390-397.
- Boutaiba, S., Bhatnagar, T., Hacene, H., Mitchell, D.A. y Baratti, J.C. (2006). Preliminary characterization of a lipolytic activity from an extremely halophilic archaeon, *Natronococcus* sp. *J Mol Catal B Enzym.* 41: 21-26.
- Ozcan, B., Ozyilmaz, G., Cokmus, C., y Caliskan, M. (2008). Characterization of extracellular esterase and lipase activities from five halophilic archaeal strains. *J Ind Microbiol Biotechnol.*
- Beisson, F., Tiss, A., Riviere, C. y Verger, R. (2000). Methods for lipase detection and assay: a critical review. *Eur J Lipid Sci Technol.* 133-153.