

AISLAMIENTO Y SELECCIÓN DE MICROORGANISMOS PRODUCTORES DE LIPASAS A PARTIR DE SUELOS.

Jabel Dinorín Téllez Girón, Carla de la Cerna Hernández, Víctor Eric López y López
Ex Hacienda San Juan Molino Carretera Estatal Tecuexcomac-Tepetitla Km. 1.5 Lardizabal, Tlaxcala C.P.
90700. Fax: 01(248) 4870762. vlopezyl@ipn.mx

Palabras clave: *Lipasas, Rodamina B, Biodiesel*

Introducción. El biodiesel son ésteres monoalquílicos que a nivel industrial se obtienen a partir de la reacción de transesterificación de aceites vegetales y/o grasas animales por catálisis alcalina con NaOH. Sin embargo el proceso enzimático puede presentar ciertas ventajas sobre el proceso químico y las lipasas son el biocatalizador por medio de las cuales también se puede obtener este bioenergético⁽¹⁾. De ahí del interés por la búsqueda de microorganismos productores de lipasas con alta actividad catalítica para la producción de biodiesel.

El objetivo de este trabajo fue aislar y seleccionar microorganismos productores de lipasas con alta actividad lipolítica a partir de muestras de suelos para su aplicación en la producción de Biodiesel

Metodología. Se usaron dos medios líquidos: el primero fue un medio mineral (MM) preparado con 7.5 g/L de $(NH_4)_2SO_4$, 8 g/L de KH_2PO_4 , 3 g/L de $MgSO_4$, 0.5 g/L de $ZnSO_4$, 0.15 g/L de EDTA, 3 mg/L de $MnCl_2$, 5 mg/L de $CuSO_4$, 5 mg/L $CoCl_2$, 5 mg/L de Na_2MoO_4 , 30 mg/L $CaCl_2$, 30 mg/L de $FeSO_4$, 3 g/L de extracto de levadura y 8 g/L de caldo nutritivo; el segundo medio fue caldo nutritivo (CN) 8 g/L mas 8 g/L de NaCl. A ambos medios se adicionó el 1% p/v de aceite de desecho a tres diferentes pH (5, 7 y 9). Los medios se inocularon con tres muestras de suelos provenientes de sitios en los cuales había aceite vegetal. Se acondicionaron a 30°C y 100 rpm. El aislamiento y purificación se realizó a partir de estos cultivos con diluciones para sembrar en placa en los medios MM y CN, y el MM adicionado con sacarosa (MMS), todos los medios sólidos contenían 0.001% (p/v) de Rodamina B y 1% p/v de aceite de desecho⁽²⁾. La evaluación cualitativa de la actividad lipolítica se hizo con la observación bajo luz UV de estas placas a diferentes tiempos de incubación. Posteriormente se les practicó tinciones de Gram para verificar su correcto aislamiento.

Resultados y discusión. El aislamiento y purificación de microorganismos productores de lipasas se realizó basándose en el crecimiento y la actividad de lipasas bajo luz UV (Fig. 1). La Rodamina B fluoresce bajo luz UV, pero en presencia de actividad lipolítica en el medio, se pierde la fluorescencia debido a la formación de un complejo con la Rodamina B y ácidos grasos, observándose como zonas oscuras (Fig. 1 y 2).

Adicionalmente se comparó la morfología colonial de los microorganismos para reducir la cantidad de los mismos. Posteriormente se comprobó por tinción de Gram su pureza, de esta manera se obtuvieron 32 bacterias Gram negativas que presentan actividad de lipasas elevadas. Las cepas aisladas fueron: a pH 7, nueve en MM, 9 en MMS y 5 en CN; para pH 5, cuatro en MM y 3 en CN y por último para pH 9 fueron sólo 2 en MMS.

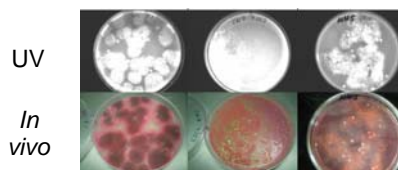


Fig. 1. Comparación de placas sembradas a partir de muestras de los medios de acondicionamiento.

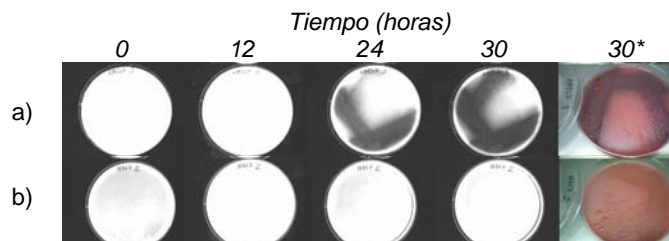


Fig. 2. Comparación de placas bajo luz UV a diferentes tiempos de incubación. (a) microorganismo productor de lipasas y (b) microorganismo sin presencia de actividad de lipasas.

Conclusiones. La metodología utilizada para aislar y seleccionar microorganismos con actividad lipolítica fue adecuada, pues se lograron aislar 32 bacterias Gram negativas a partir de 3 muestras de suelos. Estas cepas serán evaluadas para cuantificar su capacidad de transesterificación de aceites y grasas para la producción de biodiesel.

Agradecimientos. Proyecto SIP20091292 del IPN.

Bibliografía.

- Ranganathan SV, Narasimhan SL, Muthukumar K (2008). An overview of enzymatic production of biodiesel. *Biores Technol*, 99: 3975-3981.
- Kouker G, Jaeger KE (1987). Specific and Sensitive Plate Assay for Bacterial Lipase. *Appl Enviromen Microbiol*, 53 (1): 211-213.