

APLICACION DE METODOLOGIA DE SUPERFICIE DE RESPUESTA EN LA OPTIMIZACION DE LA PRODUCCION DE LA LIPASA TERMOALCALOFILA DE *Geobacillus thermoleovorans* CCR11

. Sánchez-Otero, M. G.¹, Ruiz-López, I. I.², Ávila-Nieto, D. E.¹ y Oliart-Ros, R. M.¹

¹ Unidad de Investigación y Desarrollo en Alimentos. Instituto Tecnológico de Veracruz.

M. A. de Quevedo 2779, Veracruz, Ver. 91897. México. Tel: (229) 9345701 ext. 112. Fax: (229) 9341478 ext. 201

² Coordinación de Posgrado en Investigación de Ingeniería Química y Bioquímica. Instituto Tecnológico de Tuxtepec.

Av. Dr. Víctor Bravo Ahuja S/N. Tuxtepec, Oaxaca. C.P. 68350. México. maguaso@yahoo.com.

Palabras clave: optimización, lipasa, termófilo

Introducción

Las lipasas (Triacilglicerolhidrolasas E.C. 3.1.1.3) han sido ampliamente utilizadas debido a su versatilidad biotecnológica y su capacidad de catalizar un amplio espectro de bioconversiones, tales como la síntesis de intermediarios farmacéuticos, aromas y saborizantes (1). Estos procesos pueden ser llevados a cabo de una manera más eficiente a elevadas temperaturas o en presencia de disolventes orgánicos, por lo que se ha buscado encontrar y caracterizar lipasas termoestables, (2). La producción de lipasas provenientes de microorganismos se ve influenciada por factores fisico-químicos (temperatura, pH, concentración de oxígeno disuelto) y la composición del medio (la fuente de carbono y nitrógeno). Estrategias estadísticas tales como los Métodos de Superficie de Respuesta (RSM), han sido utilizadas para incrementar la producción de lipasas de diferentes microorganismos y han permitido profundizar en el entendimiento de las interacciones entre las variables con un número mínimo de experimentos (3).

El objetivo del presente trabajo fue optimizar la producción de la lipasa termoalcalófila de *Geobacillus thermoleovorans* CCR11 utilizando RSM.

Metodología.

G. thermoleovorans CCR11 es una bacteria termófila aislada de la fuente de aguas termales "El Carrizal" en Veracruz, México. Se utilizó aceite de cártamo alto oleico como inductor. En el primer paso se llevó a cabo un diseño factorial fraccionado de dos niveles de resolución IV para analizar el efecto de las variables de cultivo (temperatura, agitación, pH) y de composición del medio (aceite, inóculo, goma arábica y caldo nutritivo) en la producción de lipasa. En el segundo paso se llevó a cabo un diseño D-óptimo para determinar el valor óptimo de cada variable, finalmente se validó el modelo.

Resultados y Discusión.

Después realizar un ANOVA de la regresión lineal de los experimentos preliminares solo la temperatura y el caldo nutritivo fueron significantes para la producción de la enzima ($p > 0.95$). Al mover las variables en la dirección del patrón de ascenso, no se encontró diferencia significativa en la producción de lipasa en la proximidad de la región experimental por lo que se planteó el diseño D-óptimo, en donde el punto central fue la combinación

de variables que arrojaron la mayor producción de lipasa (temperatura de 40 °C, caldo nutritivo 3.5 g/L. La producción de lipasa obtenida en los experimentos de optimización se encontró en el rango de 448.3-2502.7 U/mg de proteína. Se obtuvo el siguiente modelo de superficie de respuesta:

$$\ln Y = 7.6301 - 0.2684X_1 + 0.1786 X_2 + 0.1273 X_1 X_2 - 0.2904 X_1^2 - 0.2809 X_2^2$$

Se utilizó una transformación logarítmica para obtener una mejor distribución del error y la representación se observa en la Fig 1. De acuerdo a esta ecuación la actividad máxima que se puede obtener es de 2118.4 U/mg proteína, con 3.66 g/L de caldo nutritivo y 40 °C. Se validó el modelo obteniendo 2314.6 U/mg que no fue significativamente diferente ($p > 0.95$), de el valor obtenido con 3.5 g/L de caldo nutritivo y 40 °C (2343.3 U/mg proteína).

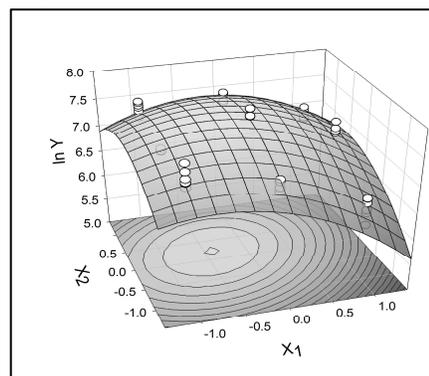


Fig 1. Respuesta predicha y experimental para la optimización X_1 : temperatura, X_2 concentración de caldo nutritivo (codificadas)

Conclusiones. Se logro optimizar la producción de enzima, aumentandola más de 15 veces utilizando RSM.

Bibliografía.

1. Hasan, H., Ali Shah, A. and Hameed, A. 2006. Industrial applications of microbial lipases. *Enzyme and Microbial Technology* 39, 235-251
2. Haki, G.D. y Rakshit, S.K. (2003). Developments in industrially important thermostable enzymes: a review. *Bioresource Technology*. **89**, 17-34.
3. Ruchi, G., Anshu, G., Khare, S.K. (2008). Lipase from solvent tolerant *Pseudomonas aeruginosa* strain: production optimization by response surface methodology and application. *Bioresource Technology* 99, 4796-4802.