

EFFECTO DEL pH, LA TEMPERATURA Y LA CONCENTRACION DE NaCl, SOBRE EL CRECIMIENTO Y LA PRODUCCION DE ESTERASA Y LIPASA EN LA ARQUEA HALOFILA *Haloarcula marismortui*

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 arqueas halófilas adaptadas a desarrollarse en ambientes altamente salinos, en los que la actividad de agua es muy baja, son consideradas como fuentes potenciales de biocatalizadores activos en medios no acuosos (1). Sin embargo, estos microorganismos son difíciles de cultivar y la producción de enzimas es extremadamente baja, comparada con la obtenida a partir de hongos o bacterias (2).

El objetivo de este trabajo fue estudiar la influencia del pH, de la temperatura y de la concentración de NaCl, sobre el crecimiento y la producción de esterasa y lipasa de *Haloarcula marismortui*.

Metodología. El efecto de dichos factores sobre el crecimiento y la producción de esterasa y lipasa de *H. marismortui* fue estadísticamente analizado usando un diseño de superficie de respuesta (RSD), Box Behnken. Se analizaron tres niveles para cada factor, pH: 6, 7 y 8; temperatura: 30, 40 y 50°C; concentración de NaCl: 2.5, 3.5 y 4.5 M. La actividad enzimática fue determinada midiendo a 410nm, la cantidad de *p*-nitrofenol liberado debido a la hidrólisis del *p*-nitrofenil valerato y laurato (3). 1U=1μmol/min. Las actividades esterasa y lipasa fueron confirmadas por la hidrólisis de triglicéridos (Tributirina y Trioctanoína, respectivamente).

Resultados y discusión. Las funciones de respuesta que predijeron la velocidad de crecimiento (Y_1), la producción de esterasa (Y_2) y la producción de lipasa (Y_3), fueron:

$$Y_1 = -1.70592 + 0.354458 \cdot X_e + 0.0101458 \cdot X_s + 0.136292 \cdot X_t - 0.0269167 \cdot X_e^2 - 0.000251667 \cdot X_s^2 - 0.0229167 \cdot X_t^2 + 0.001125 \cdot X_e \cdot X_s + 0.000775 \cdot X_s \cdot X_t$$

$$Y_2 = -34.7701 + 11.1171 \cdot X_e - 0.3553 \cdot X_s + 1.7675 \cdot X_t - 0.843 \cdot X_e^2 - 0.42625 \cdot X_t^2 + 0.0298 \cdot X_e \cdot X_s + 0.037175 \cdot X_s \cdot X_t$$

$$Y_3 = -5.3304 + 1.89677 \cdot X_e - 0.0963625 \cdot X_s + 0.268885 \cdot X_t - 0.154269 \cdot X_e^2 - 0.0897692 \cdot X_t^2 + 0.008975 \cdot X_e \cdot X_s + 0.010675 \cdot X_s \cdot X_t$$

Los valores de los coeficientes de determinación (R^2) mostraron que las ecuaciones fueron altamente confiables (0.964, 0.937 y 0.928 para Y_1 , Y_2 y Y_3 , respectivamente), siendo adecuados para la predicción de las variables de respuesta en el rango estudiado. La velocidad de crecimiento máxima calculada por RSD fue de 0.086 h^{-1} a 42.5°C, pH 7.4 y 3.6 M NaCl (Fig. 1). Los valores de μ y de la temperatura de incubación óptima (42.5°C) coincidieron con los rangos reportados para la mayoría de las haloarqueas: $0.057\text{--}0.231 \text{ h}^{-1}$ y 43–58°C (4). Además, el crecimiento y la producción de enzimas fueron influenciados por la interacción entre la temperatura y la concentración de NaCl, revelando un

efecto de protección térmica debido al NaCl. Un efecto similar ha sido observado en otras arqueas halófilas y sus enzimas (2). Las máximas producciones de esterasa y lipasa calculadas por RSD fueron 2.3 y 0.58 U/l, respectivamente.

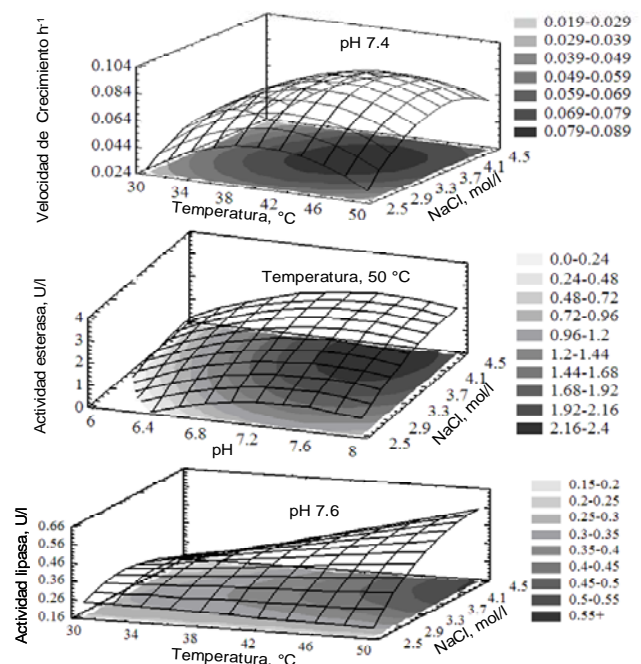


Fig. 1. Efecto de la temperatura, el pH y la concentración de NaCl sobre el crecimiento y la producción de enzimas.

Conclusiones. El incremento en la temperatura y la concentración de NaCl favorecieron la producción de esterasa y lipasa (50°C y 4.5 M NaCl). Mientras que el crecimiento se favoreció a temperatura y concentración de NaCl menores (42.5°C y 3.6 M).

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

Bibliografía.

- (1) Eichler, J. (2001). Biotechnological uses of archaeal extremozymes. *Biotech. Adv.* 19: 261-278.
- (2) Bhatnagar, T., Boutaiba, S., Hacene, H., Cayol, J.L., Fardeau, M.L., Ollivier, B. y Baratti, J.C. (2005). Lipolytic activity from Halobacteria: Screening and hydrolase production. *FEMS Microbiol. lett.* 248: 133-140.
- (3) 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.
- (4) Dyll-Smith, M. (2006). Introduction to halobacteria. En: *The halohandbook, protocols for haloarchaeal genetics*. University of Melbourne, Australia. 6-10.