



SELECCION DE CEPAS CON PRODUCCION DE LIPASAS AISLADAS DE SUELO CONTAMINADO CON ACEITES VEGETALES

Eugenia G. Ortiz, Isela Quintero, Luis J. Galán, Katiushka Arévalo*

Instituto de Biotecnología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, Av. Universidad s/n, Cd. Universitaria, San Nicolás de los Garza, N.L., C.P. 66455. karevalo01@hotmail.com

Palabras clave: lipasas, aceites, suelo.

Introducción. Las lipasas (triacilglicerol hidrolasas) son catalizadoras en reacciones lipolíticas, a través de la hidrólisis de los enlaces éster en la interfase lípido-agua (1). Son producidas por diversos microorganismos, en ocasiones en conjunto con estererasas; son capaces de llevar a cabo la esterificación, interesterificación y transesterificación. Algunos ejemplos de cepas utilizadas por su producción de lipasas son *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia* y *Bacillus pumilus* (2). Uno de los métodos más utilizados para detección de lipasas es la utilización de Rodamina B, sin embargo este método es inespecífico ya que también detecta estererasas.

El objetivo de este trabajo fue la detección espectrofotométrica de actividad lipolítica utilizando nitrofenil palmitato como sustrato con la finalidad de obtener sobrenadantes con potencial de realizar biocatálisis en la transesterificación de aceites vegetales residuales.

Metodología. Se tomaron muestras de suelo contaminado con aceite vegetal residual que fueron transportadas en bolsas plásticas estériles. Se procesaron por medio de dilución seriada y se sembraron en agar nutritivo y agar papa dextrosa con revisiones periódicas cada 24 h. Como "screening" primario para detección de actividad lipolítica se sembraron en agar rodamina B por 96 h revisadas bajo luz UV a 350 nm. Una vez seleccionadas las cepas con potencial de producción en base a halo de fluorescencia se sometieron a detección espectrofotométrica utilizando una solución de p-nitrofenil palmitato con Tris HCl y Tritón X-100 como sustrato específico a intervalos de 24 h por 120 h para bacterias y 168 h para hongos. Posteriormente se encapsularon los sobrenadantes obtenidos en alginato de sodio al 3% y se determinaron sus características de estabilidad.

Resultados. Se obtuvieron 100 cepas a partir de suelo, 76 bacterias y 24 hongos, del "screening" inicial (Agar Rodamina B) se obtuvieron 38 cepas bacterianas y 14 cepas fúngicas positivas para actividad lipolítica (Fig. 1).

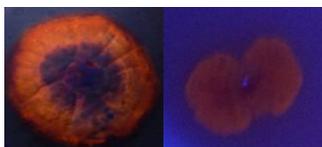


Fig. 1 A) Cepa fúngica B) Cepa bacteriana.

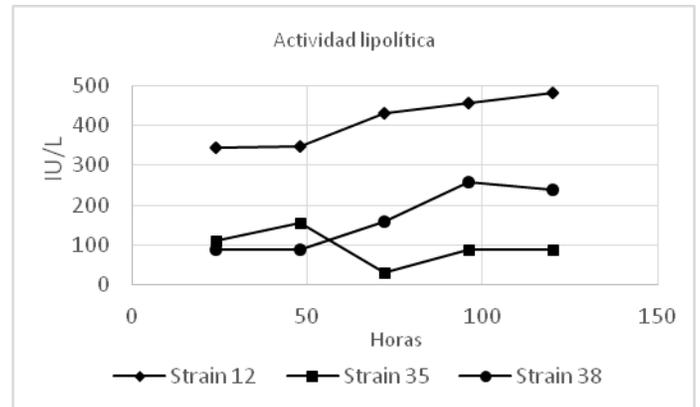


Fig. 2 Actividad lipolítica extracelular bacteriana.

Se seleccionaron a las 3 cepas bacterianas con mayor actividad y se sometieron a cuantificación espectrofotométrica (Fig. 2) obteniendo 480 UI/L para la cepa con mayor producción la cual se encapsuló en alginato de sodio en esferas con un rango de diámetro de 0.5 a 2 mm. Al determinar su actividad posterior al encapsulamiento se observó una disminución del 16.4% después de 21 días de almacenamiento a 4 °C. Se determinó una temperatura óptima de actividad de 60 °C y tolerancia al metanol, con una reusabilidad de 2 ciclos.

Conclusiones. Se confirmó la utilidad del "screening" con agar rodamina B como método de selección de cepas con actividad lipolítica. Se seleccionó una cepa bacteriana por su actividad lipolítica extracelular, de la cual se encapsuló el sobrenadante y se analizó su rango de tolerancia sobre los parámetros requeridos para realizar la transesterificación enzimática de aceites vegetales residuales obteniendo resultados que muestran potencial efectividad sobre la obtención de biodiesel.

Agradecimiento. CONACYT número de beca 392281.

Bibliografía.

1. Houde A, et. al. (2004). Lipases and their industrial applications: an overview. *Appl Biochem and Biotech.* Vol. (118): Pág. 155-170
2. Treichel H., Oliveira B., Mazutti A. M., Di Luccio M. & Olivira V. J. (2010). A review on microbial lipases production. *Food Bioprocess Tech.* Pág. 182-196.