



EFFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE EL CRECIMIENTO Y LA PRODUCCIÓN DE LIPASAS POR HONGOS TERMOTOLERANTES

R. Alejandro Angel-Cuapio, Blanca E. Hernández-Rodríguez, Ernesto Favela-Torres
Universidad Autónoma Metropolitana-I. San Rafael Atlixco 186 Col. Vicentina. C.P. 09340. Fax (55) 58 04 65 54
angelcuapio@yahoo.com.mx

Palabras clave: Hongos termotolerantes, energía de activación y desactivación, fermentación en medio sólido

Introducción. Las lipasas son triacilglicerol acilhidrolasas que catalizan la hidrólisis de triglicéridos a glicerol y ácidos grasos libres y pueden llevar a cabo reacciones de síntesis como aminólisis, alcoholólisis, entre otras. Las fuentes de estas enzimas son de origen animal, vegetal y de microorganismos, siendo estos últimos los más importantes y utilizados a nivel industrial. Los hongos filamentosos producen lipasas extracelulares, permitiendo procedimientos sencillos de recuperación-purificación. Además, a partir de algunas cepas termofilas y termotolerantes se han obtenido enzimas termoestables, las cuales representan un biocatalizador potencial para procesos en donde se opera a temperaturas $\geq 45^\circ\text{C}$, que ofrece varias ventajas: a) mayores velocidades de reacción, b) menor viscosidad en el medio, c) mayor solubilidad de sustratos y productos y d) menor posibilidad de contaminación microbiana (1). Las energías de activación y desactivación en los procesos de crecimiento y actividad enzimática permiten conocer la sensibilidad del sistema en función de la temperatura, por tanto, las reacciones con mayor energía de activación son más sensibles a la temperatura (2).

Objetivo. Determinar el efecto de la temperatura sobre el crecimiento de hongos termotolerantes y la actividad enzimática AE de las lipasas producidas, a través de la estimación de los parámetros de la ecuación de Arrhenius.

Metodología. Se utilizaron 7 cepas de hongos termotolerantes (*Rhizopus*. sp): 9aIV, 13a, 13bIV, 19, 43aIV, 56cIV y (*Rhizomucor*. sp): 23aIV de la colección de cepas del Dr. Jesús Córdova de la Universidad de Guadalajara. El medio de cultivo para la producción de lipasas, las condiciones de fermentación en medio sólido y la cuantificación de la actividad lipolítica se describen en (3) empleando agrolita como soporte inerte. La tasa específica de crecimiento (μ) se calculó a partir de los análisis de respirometría (4) de los cultivos (CO_2 vs. tiempo). Las temperaturas evaluadas para el crecimiento fueron de 30 a 50 °C. La AE se midió de 20 a 70 °C. Para obtener los valores de energías de activación (*Ea*) y desactivación (*Ed*) se utilizó la ecuación de Arrhenius (2). Las temperaturas óptimas de crecimiento y reacción corresponden al punto de intersección de las curvas de la ecuación de Arrhenius expresadas en forma logarítmica ($\ln v$ vs $1/T$).

Resultados y discusión. Por los valores de *Ea* del crecimiento la cepa 23aIV es la más sensible a la temperatura y 13bIV la más estable (2). Las cepas 13a y 19

poseen la mayor termotolerancia (menores valores de *Ed*. Contrario a esto, las cepas 9aIV, 13bIV, 43aIV, 56cIV presentan una menor termotolerancia. Con base en el valor de *Ea*, la lipasa producida por la cepa 23aIV es la más sensible a la temperatura, mientras que la lipasa de la cepa 13a es la más estable porque se desnaturaliza en menor proporción con respecto a las 6 restantes, su $T_{\text{óptima}}$ es de 39.9 °C.

Tabla 1. Energías de activación (*Ea*), desactivación (*Ed*) y temperatura óptima (T_{opt}) del crecimiento y de la actividad lipasa de hongos termotolerantes.

Cepa	Crecimiento			Actividad Lipasa		
	<i>Ea</i>	<i>Ed</i>	T_{opt}	<i>Ea</i>	<i>Ed</i>	T_{opt}
	KJ/mol	KJ/mol	°C	KJ/mol	KJ/mol	°C
9aIV	81.6	32.2	35.9	41.4	178.2	43.7
13a	73.0	9.9	35.2	45.3	28.3	39.9
13bIV	21.2	33.5	38.2	56.3	40.7	41.7
19	49.2	5.8	32.6	43.1	71.2	38.5
23aIV	124.3	24.7	32.1	71.7	56.7	44.0
43aIV	38.4	81.6	41.1	64.3	108.5	40.1
56cIV	35.8	49.0	39.3	61.6	96.6	40.3

Conclusiones. Los valores de *Ea* y *Ed* permitieron determinar de manera cuantitativa las temperaturas óptimas de crecimiento y actividad enzimática; así como, determinar la termoestabilidad de las cepas fúngicas y las enzimas producidas. Esta metodología permitió además, seleccionar a la cepa de *Rhizopus* sp. (13a), tanto por su estabilidad a temperaturas superiores a su T_{opt} de crecimiento, como la mayor termoestabilidad de la lipasa producida por esta cepa.

Bibliografía.

- (1) Rohit, S, Yusuf, C, Uttam C. B. (2001). Production, purification, characterization, and applications of lipases. *Biotechnol. Adv.* vol (19): 627-662
- (2) Levenspiel, O. (2002). Cinética de las reacciones homogéneas. En: *Ingeniería de las reacciones químicas*. Tojo, G. Editorial Reverté S. A. México. 9-38
- (3) Rodríguez, J, Mateos, J, Nungaray, J, González, V, Bhagnagar, T, Roussos, S, Cordova, J y Baratti, J. (2005). Improving lipases production by nutrient source modification using *Rhizopus homothallicus* cultured in solid state fermentation. *Process Biochem.* 41(11): 2264-2269.
- (4) Saucedo-Castañeda, G, Trejo-Hernández, M. (1994). On-line Automated Monitoring and Control Systems for CO_2 and O_2 in Aerobic and Anaerobic Solid-State Fermentations. *Process Biochem.* 29:13-24.