



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

Halobacterium sp. NRC-1

Rosa María 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 muy baja comparada con la producción obtenida a partir de hongos o bacterias (2).

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

Metodología. El efecto del pH, la temperatura y la concentración de NaCl sobre el crecimiento y la producción de esterasa de *Halobacterium* sp. NRC-1 fue estadísticamente analizado usando un diseño de composición central, Box Behnken (3). Se analizaron tres niveles para cada factor, pH: 6, 7 y 8; temperatura: 30, 40 y 50°C; concentración de NaCl: 2, 3.5 y 5M. Se llevaron a cabo 15 corridas en matraces de 500ml. Las variables de respuesta fueron las unidades de actividad esterasa a las 50 horas del cultivo y la velocidad de crecimiento (μ , en h^{-1}). La actividad esterasa fue determinada midiendo a 410nm, la cantidad de *p*-nitrofenol liberado debido a la hidrólisis del *p*-nitrofenil butirato (4). 1U=1 μ mol/min.

Resultados y discusión. El análisis de varianza (Cuadro 1) muestra que la concentración de NaCl y el pH son factores significativos que afectan la velocidad de crecimiento, ya que el *p*-Value es menor a 0.05. Existe una clara interacción entre la concentración de NaCl y la temperatura sobre el crecimiento de *Halobacterium* sp. (Fig. 1). Este mismo efecto de interacción ha sido observado en el caso de la arquea halófila *Natronococcus* sp. (2). A bajas temperaturas, pareció no haber diferencias significativas en el crecimiento, al variar la concentración de NaCl. A altas temperaturas, la velocidad de crecimiento se incrementó al aumentar la concentración de NaCl. El crecimiento fue máximo (0.104 h^{-1}), bajo las siguientes condiciones: T = 44°C, pH = 6.0, NaCl = 4.2M.

Cuadro 1. Análisis de varianza

Variables	μ	Actividad esterasa
	<i>P</i> -Value	<i>p</i> -Value
Temperatura	0.3670	0.1768
pH	0.0134	0.0420
NaCl	0.0020	0.0002
T y NaCl	0.0131	0.1291

La producción de esterasa aumentó al incrementar la concentración de NaCl a un pH cercano a 6 (Fig. 2). La temperatura no pareció influenciar la producción de esterases. La máxima producción de esterases (13.04 U/l) fue lograda bajo las siguientes condiciones: T=50°C, pH=6.0, NaCl=5M.

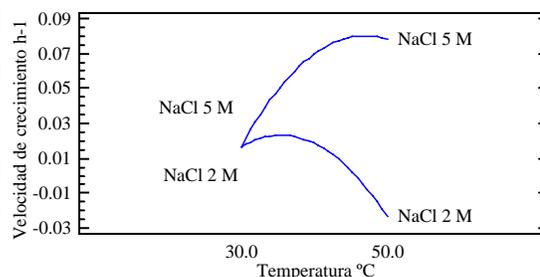


Fig. 1. Interacción entre la temperatura y la concentración de NaCl sobre la velocidad de crecimiento.

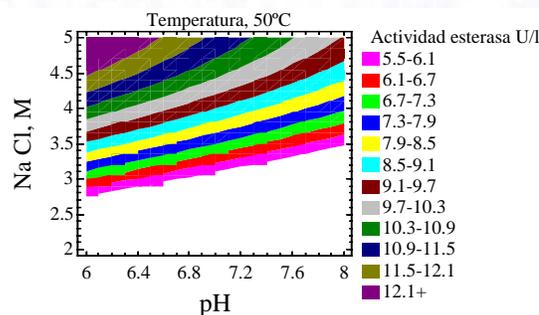


Fig. 2. Efecto del pH y de la concentración de NaCl sobre la actividad esterasa.

Conclusiones. En medios con alto contenido de sal, la solubilidad del oxígeno, la disponibilidad de agua y la viscosidad son fuertemente afectadas por la temperatura. Por esta razón, el efecto combinado de la temperatura y la concentración de NaCl, influencia el crecimiento de la haloarquea de manera muy significativa. Sin embargo, la síntesis de esterases responde de manera diferente a estas tres variables, siendo afectada principalmente por la concentración de NaCl.

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) Kuehl, R.O. (2003). Diseños con superficie de respuesta. En: *Diseño de experimentos Principios estadísticos de diseño y análisis de investigación*. Thomson Learning, México. 435-446.
- (4) 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.