

# OPTIMIZACIÓN DEL MEDIO PARA LA OBTENCIÓN DE LIPASA DE *Bacillus pumilus* GMA1

Aideé P. Ibáñez, Idalia Flores Argüello y Amelia Farrés González-Saravia  
Laboratorio 312 Dpto. de Alimentos y Biotecnología, Conjunto E, Facultad de Química, UNAM.  
just\_persa@hotmail.com

Palabras clave: lipasa ,optimización ,*B .pumilus*

**Introducción.** Las lipasas son ampliamente utilizadas en procesamiento de alimentos, detergentes, síntesis de compuestos químicos, manufactura de papel, cosméticos y fármacos. Las lipasas microbianas poseen ventajas, como mayor productividad (3). *Bacillus pumilus* GMA1 es una bacteria proveniente de aguas termales, aislada por el grupo de trabajo, produce una lipasa extracelular y termoactiva que ha sido caracterizada previamente y que posee un PM de 19 a 20 Kda,(1,4) y que posee actividad óptima a temperaturas de 50°C y pH de 10.5 (4). Esto hace que cuente con un uso potencial en reactores industriales, en los que las enzimas termoactivas pueden ayudar a reducir tiempos de conversión y lograr condiciones selectivas que eviten contaminación microbiana. En este caso, la limitante para búsqueda de aplicaciones es el bajo rendimiento obtenido en la cepa silvestre, por lo que el objetivo de este trabajo es encontrar las condiciones en las que *B. pumilus* GMA1 produzca la mayor cantidad de lipasa. En una primera etapa se determinarán los nutrientes mas importantes, para proceder después a la optimización empleando métodos factoriales.

**Metodología.** Se evaluó el efecto de 11 fuentes de carbono, 5 mezclas de 4 fuentes de nitrógeno orgánico e inorgánico, además del efecto del aceite de olivo de 0.2 a 1.0 % como presunto inductor (1) así como el efecto de la glucosa de 0 a 6g/L como posible represor. La actividad lipolítica se cuantificó por el método de Isobe (2) y cualitativamente con  $\alpha$ -naftil acetato. Se usó como medio de comparación BHI (Disco) y se corroboró la presencia de la enzima de interés por medio de geles SDS-PAGE y zimografía.

**Resultados y discusión.** La mayor actividad se obtuvo cuando se usó glicerol al 10 % como fuente de carbono. No se presentó diferencia significativa entre el uso de nitrógeno de origen orgánico e inorgánico. Se encontró un efecto de represión por glucosa en concentraciones mayores a 1g/L. El aceite de olivo induce la producción de la enzima, pero la concentración del mismo se pudo disminuir hasta 0.2% para facilitar la recuperación de la enzima.

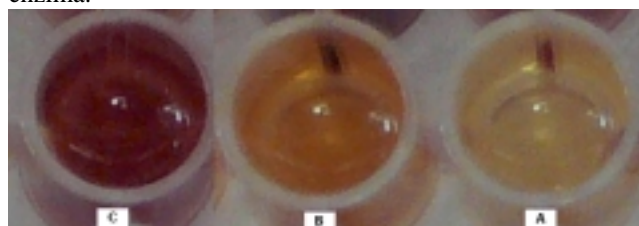


Fig. 1 Actividad lipolítica, utilizando como sustrato  $\alpha$ -Naftil acetato, y como revelador el fast red, Sigma. A)Blanco, B)BHI Difco, C)Medio óptimo.

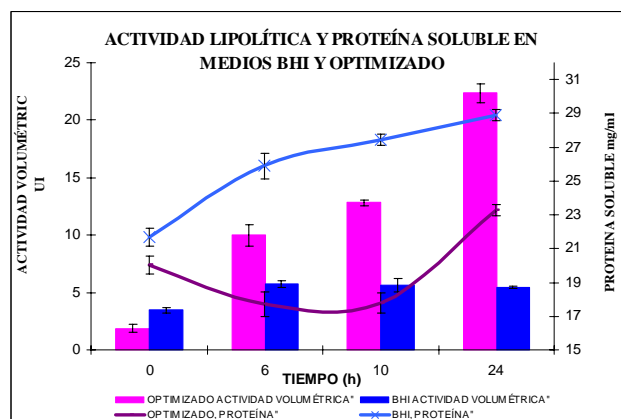


Fig 2 Actividad lipolítica en UI y proteína soluble mg/mL, comparación de medio óptimo vs medio BHI Difco.

**Conclusiones** La actividad volumétrica de la lipasa de *Bacillus pumilus* se incrementó de 5.6 hasta 22.35UI, y el mayor efector fue el glicerol.....

BHI DIFCO g/L		MEDIO ÓPTIMO g/L	
Infusión cerebro ternero	7.7	Extracto de carne	17.0
Infusión corazón de buey	9.8	Peptonas de proteasas	10.0
Peptona de proteasas	10.0	Glicerol	10.0
Dextrosa	2.0	Dextrosa	1.0
NaCl	5.0	NaCl	5.0
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	2.5	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	2.5
Actividad máxima 24hrs,	5.6 UI	Actividad máxima 24hrs	22.35UI
Temperatura 50°C Estático			

Tabla1. Composición y condición de los medios de cultivo

**Agradecimiento.** A la M. en C. Pérez Murguía por apoyo técnico y a la M. en C- Ramírez Carrillo por asesoría estadística.

## Bibliografía.

- Bustos I., "Aislamiento Selectivo de un Microorganismo Productor de lipasa Proveniente De Un Ambiente Extremo". (Tesis de Licenciatura, UNAM, 1995).
- Isobe, K., Akiba T. Yamaguchi. S. (1998). Crystallization and characterization of lipase from *p*Penicillium cyclopium. *Agric Biol Chem*
- Rphit S, et al, 2001 Production, purification, characterization and applications of lipases, *Biotech Advances*
- Wong P. (2001). Lipasa termoestable de *Bacillus pumilus* GMA1: producción fermentativa y algunas propiedades. Tesis, Química de alimentos, Facultad de Química, UNAM.