



PRODUCCIÓN DE LIPASAS POR HONGOS TERMOTOLERANTES EN CULTIVO SÓLIDO

Juan M. González-Ayala, Blanca E. Hernández-Rodríguez, Jesús A. Córdova-López, Eduardo Bárzana-García, Ernesto Favela-Torres

Universidad Autónoma Metropolitana-I. San Rafael Atlixco No. 186 Col. Vicentina. C.P. 09340. fax (55) 58 04 65 54
blancaeli_hr@yahoo.com.mx

Palabras clave: lipasas, fermentación en medio sólido, hongos termotolerantes

Introducción. Los hongos son una de las fuentes más importantes de lipasas para aplicaciones industriales, ya que las producen generalmente en forma extracelular, facilitando así su recuperación-purificación a partir del medio de fermentación. Se ha reportado la producción de lipasas en fermentación en medio sólido (FMS) por hongos filamentosos (*Rhizopus* sp., *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Mucor* sp.) y levaduras (*Y. lipolytica*, *C. rugosa*), en donde se estudiaron principalmente, el efecto de los factores nutricionales (1). Por otra parte, algunos hongos termotolerantes han producido enzimas termoestables de interés comercial para la industria biotecnológica, en donde la temperatura de diversos procesos biocatalíticos es $\geq 45^\circ\text{C}$.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la producción de lipasas por siete cepas de hongos termotolerantes en FMS.

Metodología. La FMS para la producción de lipasas por siete cepas de hongos termotolerantes (*Rhizopus* sp.), se realizó en las siguientes condiciones (2): agrolita (0.81-1.19 mm) impregnada con el medio de cultivo; inóculo: 3×10^7 esporas/g de soporte; 45°C ; aireación: 40 mL min^{-1} ; pH 6.5; humedad: 55%. El crecimiento del cultivo se monitoreó de manera indirecta a través de la producción de CO_2 . La actividad enzimática se cuantificó por dos métodos espectrofotométricos: hidrólisis de (a) *p*-nitrofenil-palmitato (*p*NPP) y (b) aceite de oliva. Se reportaron las unidades de actividad enzimática por gramo de materia seca fermentada (Ugms^{-1}).

Resultados y discusión. Se evaluó el crecimiento y la producción de lipasas de siete cepas de hongos termotolerantes recientemente aislados, buscando obtener nuevos biocatalizadores. Durante el cultivo de la cepa 13a, se observó que la producción de lipasas está asociada al crecimiento, alcanzando un máximo de actividad enzimática a las 20 h. Una vez conocido el tiempo de fermentación adecuado, se llevaron a cabo los cultivos de las siete cepas, observando que no hubo diferencia significativa en las fases *lag* entre los cultivos (Duncan $\alpha=0.05$) (8-11 h). Las siete cepas presentaron valores de velocidad específica de crecimiento (μ) entre 0.4 y 0.5 h^{-1} . Sin embargo, μ no estuvo correlacionada con el valor de actividad enzimática obtenido, como se observa en los resultados del Cuadro 1. Las cepas 19 y 43aIV presentaron las mayores actividades de lipasas en ambos sustratos, cuyos valores estuvieron cercanos al exhibido por la enzima comercial de *Rh. miehei* (Lipozyme®). También es importante resaltar que a excepción de la cepa 23a IV, los valores de actividad encontrados para los hongos estudiados, fueron similares y en algunos casos, superiores a los que han sido reportados para hongos en cultivo sólido, que inclusive, fueron modificados

genéticamente con el fin de favorecer la producción de lipasas (*P. restrictum* 30 Ugms^{-1} , *Rhizopus oligosporus* ISU^{UV}-16 81 Ugms^{-1} , *Rhizopus oligosporus* T^{UV}-31 77 Ugms^{-1} , *Rhizopus oligosporus* GCBR-3 48 Ugms^{-1}) (3). Finalmente, cabe señalar que existen diferencias entre la relación de la actividad enzimática con ambos sustratos (R), lo cual sugiere que son enzimas diferentes y que estas lipasas prefieren hidrolizar su sustrato natural (el triglicérido).

Cuadro 1. Parámetros cinéticos de crecimiento y actividad lipasa en los procesos de FMS

| Cepa | μ^* (h^{-1}) | fase lag (h) | Actividad lipasa* | | |
|-----------|--------------------------------|-----------------|--------------------|-------------------|------|
| | | | Ugms^{-1} | | |
| | | | (<i>p</i> -NPP) | (aceite de oliva) | R |
| 9 a IV | 0.53 A | 11.05 | 2.7 D | 36.7 C | 13.5 |
| 13 a | 0.38 C | 11.34 | 8.4 C | 30.0 C | 3.5 |
| 13 b IV | 0.50 B | 9.16 | 1.9 D | 22.5 D | 10.7 |
| 19 | 0.41 C | 8.58 | 15.2 A | 74.0 B | 4.8 |
| 23 a IV | 0.41 C | 8.86 | n.d | 3.2 E | - |
| 43 a IV | 0.40 C | 8.00 | 11.1 B | 72.4 B | 6.4 |
| 56 c IV | 0.36 D | 8.11 | 7.1 C | 16.8 D | 2.4 |
| Lipozyme® | | | | 115.2 A | - |

*Duncan ($\alpha = 0.05$); n.d no detectada

R: relación entre la actividad enzimática sobre aceite de oliva y *p*-NPP

Conclusión. La FMS nos permitió obtener en corto tiempo (20h), sólidos fermentados que exhiben altos valores de actividad lipasa ($>70 \text{ Ugms}^{-1}$) similares a Lipozyme® (115 Ugms^{-1}). Debe además resaltarse que, las lipasas producidas en estos sistemas de fermentación, están naturalmente inmovilizadas en el soporte. Lo anterior sugiere la posibilidad de emplearlos directamente como biocatalizadores, evitando las etapas de purificación e inmovilización, reduciendo los costos en los procesos biosintéticos. La diferencia entre la actividad con dos sustratos sugiere que las cepas cultivadas producen enzimas diferentes.

Agradecimiento. Hernández-Rodríguez agradece la beca de posgrado otorgada por CONACyT.

Bibliografía

- Nagy, V, Toke, E y Keong, L. (2006). Kinetic resolutions with novel, highly enantioselective fungal lipases produced by solid state fermentation. *J. Mol. Cat B*: 39: 141-148
- Rodríguez, J, Mateos y J, Nungaray J, González V, Bhagnagar T, Roussos S, Córdova J, Baratti J. (2006). Improving lipases production by nutrient source modification using *Rhizopus homothallicus* cultured in solid state fermentation. *Process. Biochem.* 41(11): 2264-2269.
- ul-Haq, I, Idrees, S, Rajoka, M. (2002). Production of lipases by *Rhizopus oligosporus* by solid-state fermentation. *Process. Biochem.* 37: 637-641.