

# PURIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UNA LIPASA BACTERIANA

Pedraza Lorena, Rodríguez Mariana y Zavala Victor, Universidad Iberoamericana A.C., Prol. Paseo de la Reforma 880, Lomas de Santa Fe, 01210, México, D.F., Fax: (55)-59504279, vzavala81@yahoo.com

*Palabras clave: Actinomiceto, lipasas, caracterización*

**Introducción.** Debido a su importancia en diferentes industrias, como la de los detergentes, oleoquímica y otras, se han purificado y caracterizado lipasas de diversas fuentes animales, vegetales y microbianas por diversos métodos. Existen reportes acerca de las características de lipasas de microorganismos ya clasificados<sup>[1]</sup> y <sup>[3]</sup>, sin embargo, se han realizado pocas caracterizaciones de lipasas producidas por microorganismos no clasificados obtenidos por técnicas de screening.

El objetivo del presente trabajo fue purificar y caracterizar una lipasa obtenida de un actinomiceto parcialmente clasificado<sup>[2]</sup> a fin de analizar los usos potenciales de dicha enzima.

**Metodología.** El microorganismo utilizado (actinomiceto) se cultivó en un medio con aceite de olivo como fuente de carbono, durante 48 hrs a 37 °C, a fin de inducir la síntesis de la lipasa. La purificación se realizó mediante centrifugación, precipitación con (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y diálisis, todo esto a 0°C y pH 6. Una unidad de actividad lipolítica se definió como un μmol de ácido oleico liberado por min.

**Resultados y Discusión.** De los pasos de purificación mencionados se obtuvo un incremento de la actividad específica de 7 a 12 unidades/mg enzima. La lipasa analizada presenta actividad en un intervalo de pH de 2 a 9, no presentó actividad apreciable a valores de pH menores y mayores a los mencionados; algunos autores han demostrado que la mayoría de las lipasas son estables en intervalos de pH de 2 a 10<sup>[1]</sup>, con lo cual puede explicarse este hecho. La lipasa estudiada presentó dos valores óptimos de pH: 7.5 y 2 a 40°C, se han reportado valores similares para la lipasa de *Penicillium roqueforti*<sup>[3]</sup>. La temperatura óptima para la actividad lipolítica fue 50°C, semejante a lo reportado para *Pseudomonas sp.* y *Aspergillus terreus*<sup>[1]</sup>. La lipasa aquí estudiada presenta actividad de 30 a 70°C. Los resultados para la actividad específica de los tres pasos de purificación se muestran en el Cuadro 1. Se observó que la cinética enzimática es de tipo Michaelis-Menten, los parámetros obtenidos para este modelo fueron  $K_m=16.12$  mM y  $V_{max}=11.3$  unidades/min; la lipasa es capaz de catalizar reacciones de hidrólisis y esterificación.

**Conclusiones.** Se caracterizó la lipasa obtenida a partir de un actinomiceto no clasificado, la que muestra estabilidad en un intervalo amplio de pH y temperatura, posee actividad de hidrólisis y de esterificación y posee afinidad a diversos sustratos como aceite de olivo, cártamo, girasol y maíz, además es posible purificarla por métodos sencillos, por lo cual resulta una enzima con una variedad importante de aplicaciones potenciales como el tratamiento aguas y suelos contaminados. La cinética de hidrólisis de la enzima es de

tipo Michaelis-Menten, para la cual fueron calculados los parámetros necesarios para el modelo. La enzima presenta actividad lipolítica después de someterse al proceso de diálisis con lo cual se descarta la posibilidad de pérdidas de cofactores en el proceso de purificación.

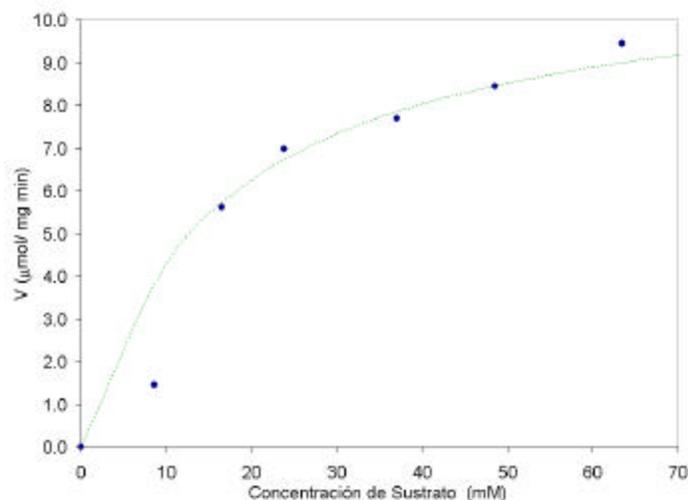


Figura 1. Cinética enzimática

Cuadro 1. Purificación de lipasa

Paso	Actividad Específica (U/mg)
Centrifugación	7.02
Precipitación (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	11.23
Diálisis	12.75

**Agradecimiento.** Agradecemos al Departamento de Ingeniería y Ciencias Químicas por el apoyo en la realización de este trabajo.

## Bibliografía.

1. Raman, Y. y Rajendra K. (1998). Purification and Characterization of a Regiospecific Lipase from *Aspergillus terreus*. *Biotechnol. Appl. Biochem.* vol (28): 243-249.
2. Córdoba. A. (2002). Aislamiento y caracterización de microorganismos lipolíticos. *Tesis de Licenciatura*. Universidad Iberoamericana.
3. Lamberet, G. y Menassa, A. (1983). Purification and properties of an acid lipase from *Penicillium roqueforti*. *J.Diary Res.* vol (50): 459-468.