



EVALUACIÓN DE LA EXTRACCIÓN DE LIPASAS CON *N*-LAURIL SARCOSINA A PARTIR DE MATERIA SECA PRODUCIDA POR FERMENTACIÓN EN MEDIO SÓLIDO

Gabriela Carrillo-Sancén, Héctor B. Escalona-Buendía¹, Georgina C. Sandoval-Fabián², Ernesto Favela-Torres¹.

¹UAM, Unidad Iztapalapa, Distrito Federal CP 09340, ²CIATEJ, Guadalajara, Jal., casaby@hotmail.com.

Palabras clave: extracción, lipasa, detergentes.

Introducción. Las lipasas (triacilglicerol ester hidrolasas, EC 3.1.1.3) son enzimas ubicuas que pertenecen a la familia de las serina hidrolasas (Reetz 2002). Aunque tradicionalmente estas enzimas se producen en fermentación sumergida, recientemente se ha prestado mucha atención a la producción de estas enzimas en fermentación en medio sólido (FMS). En el desarrollo de un proceso en FMS hay varios aspectos importantes, uno de los cuales es la extracción del producto (Pandey 2003).

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la extracción de lipasa de la materia seca fermentada, producida por fermentación en medio sólido, utilizando el detergente NLS (*N*-lauril sarcosina).

Metodología. La producción de lipasas se realizó con dos cepas de *Yarrowia lipolytica* (*Yarrowia lipolytica* ATCC 9773 y *Yarrowia lipolytica* L0018) en FMS utilizando agrolita como soporte inerte. La FMS se llevó a cabo a 30°C en matraces Erlenmeyer de 125 mL con 3 g de agrolita embebidos con 5 mL de un medio de cultivo basal. Se adicionó aceite de girasol como inductor de la síntesis de lipasas. La materia fermentada se secó hasta obtener una humedad cercana al 1%. Posteriormente, se realizaron las extracciones de lipasa utilizando soluciones del detergente NLS en amortiguador de fosfatos 100 mM, NaCl 100 mM pH 7. Se midió la actividad lipasa como el incremento en la absorbancia a 405 nm debido a la hidrólisis del *p*-nitrofenil octanoato en *p*-nitrofenol y ácido octanoico.

Resultados. En una primera etapa se evaluó el efecto del NLS sobre la actividad lipasa. Para ello se usaron extractos enzimáticos extracelulares. Para ambas cepas, la adición de NLS a concentraciones de 1 a 4 mM, tienen un efecto positivo (de 150 a 300%) sobre la actividad lipasa; siendo este efecto mayor en la lipasa producida por la cepa ATCC 9773. La concentración de NLS a la cual se da el mayor efecto de activación es 2 mM para ambas cepas. En el estudio de esta lipasa reportado por Aloulou y col. 2007, también se observó su activación con detergentes aniónicos. En una segunda etapa se evaluó el efecto de la concentración de NLS sobre la extracción de lipasas (Fig. 2). Los mayores valores de actividad enzimática se obtuvieron cuando se realizó la extracción de las lipasas con NLS 3mM. En el caso de *Yarrowia lipolytica* ATCC 9773 hay un aumento de 7 veces en el valor de actividad lipasa con respecto a los

valores de actividad en ausencia de NLS; por otro lado, la activación máxima por este detergente es de tres veces con respecto a la actividad en ausencia de NLS (Fig. 1). Por lo tanto, tenemos evidencias para inferir que el aumento en la actividad enzimática es debido a la extracción y a la activación de la lipasa. Con la cepa *Yarrowia lipolytica* L0018 se obtuvo un comportamiento similar (Fig. 2).

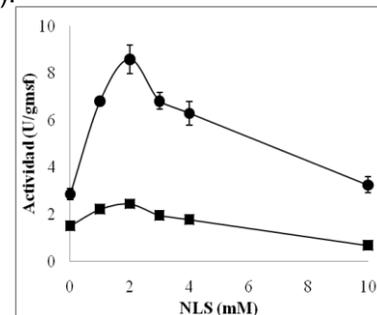


Fig.1 Efecto del NLS en la actividad lipasa presente en extracto extracelular. *Yarrowia lipolytica* ATCC 9773 (●), *Yarrowia lipolytica* L0018 (■).

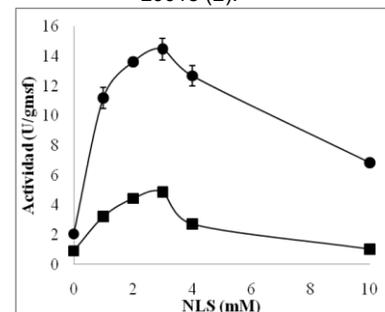


Fig. 2. Efecto del NLS en la extracción de lipasa de materia seca fermentada. *Yarrowia lipolytica* ATCC 9773 (●), *Yarrowia lipolytica* L0018 (■).

Conclusiones. Al realizar la extracción de lipasa con NLS 3.0 mM se obtuvieron los mayores valores de actividad lipasa. El aumento en la actividad es debido a la extracción y a la activación de la actividad enzimática en presencia del NLS. Tanto la actividad extracelular, como la asociada a la célula fueron activadas por el NLS.

Agradecimiento. G.C.S agradece a CONACYT (No. becario 234626).

Bibliografía.

1. Aloulou A, Rodríguez JA, Puccinelli D, Mouz N, Leclair J, Leblond Y, Carrière F. (2007). *Biochim. Biophys. Acta.* 1771: 228-237.
2. Pandey A. (2003). *Biochem. Eng. J.* 13(2-3):81-84.
3. Reetz MT. (2002). *Curr. Opin. Chem. Biol.* 6(2):145-150.