



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



ESTUDIO MICROBIOLÓGICO DE CÉLULAS DE AMBIENTES EXTREMOS PARA LA SÍNTESIS DE LIPASAS BACTERIANAS.

Thalía Salinas Jasso, Josefina Rodríguez González, Juan Enrique Mauricio B, Alma Soria Ortiz, y Yolanda Garza García. Depto. de Biotecnología. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de Coahuila. Blvd. V. Carranza e Ing. José Cárdenas V. s/n CP. 25280, Saltillo, Coahuila, México.
email: ygarza@uadec.edu.mx

Palabras clave: lipasas, bacterias, ambientes extremos.

Introducción. Las lipasas (triacilglicerol acilhidrolasa, E.C. 3.1.1.3) catalizan la hidrólisis y síntesis de acilglicérols de cadena larga (1). La mayoría de las lipasas usadas en la industria son enzimas microbianas, tanto de origen fúngico como bacteriano (2). Sin embargo, muchas de las enzimas disponibles no resisten a las condiciones de reacción industriales. Es por ello, que la caracterización de microorganismos que se encuentran en ambientes extremos es de gran interés para la obtención de nuevas enzimas, ya que tienen un gran potencial biotecnológico, debido a su extremada estabilidad a temperaturas elevadas y en solventes orgánicos (3).

El objetivo de este trabajo fue obtener lipasas de origen bacteriano a partir de microorganismos aislados de ambientes extremos.

Metodología. Se utilizaron cepas de *Bacillus sp* y *Acinetobacter sp*, las cuales fueron aisladas del Valle de Cuatro Ciénegas, Coahuila (4), se realizó una evaluación cualitativa de la actividad lipolítica de éstas cepas, utilizando un medio en placa que (5) contenía aceite de oliva, como sustrato, y rodamina b, como indicador. Se empleó una cámara de luz UV para la evaluación enzimática mencionada. Para la inducción se emplearon dos medios de cultivo con la siguiente composición (g/L): 1) CaCl₂ 0.5; MgSO₄·7H₂O 0.3; KH₂PO₄ 0.2; NaCl 0.15; FeSO₄·7H₂O 0.10; MnCl₂ 0.05; CuSO₄ 0.1; ZnSO₄ 0.05; NH₄Cl 4%; y 2) caldo nutritivo 10; extracto de levadura 2.77; como fuente de carbono en ambos medios se agregó 1 % de aceite de oliva y 0.1% de tween 80. El pH inicial se ajustó a 7 y se incubó a 30°C y 200 rpm. Los cultivos se centrifugaron a 10,000 rpm por 15 min. Se realizaron mediciones de actividad lipolítica mediante la técnica espectrofotométrica con p-nitrofenilpalmitato (p-NPP) a 400 nm, a diferentes tiempos de incubación para determinar el tiempo más adecuado en que hay mayor formación de la lipasa extracelular.

Resultados. Los resultados de la evaluación cualitativa de lipasa muestran que sólo la cepa de *Acinetobacter* presentó un color naranja fluorescente, como se observa en la figura 1, ya que la rodamina b indica la presencia de actividad lipolítica por la hidrólisis del sustrato.



Fig. 1. Comparación de placas bajo luz UV y sin luz UV de a) *Bacillus* y b) *Acinetobacter*.

Se seleccionó la cepa de *Acinetobacter* para el proceso de inducción en los dos medios. En la figura 2 se puede observar que se presentó la mayor actividad de 0.6 U/ml en el medio 2 a las 70 hrs. de incubación,

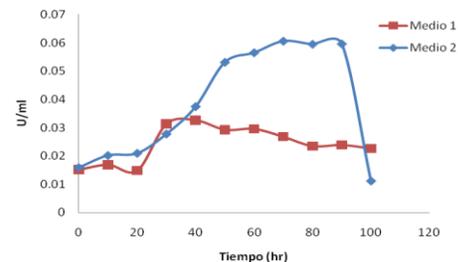


Fig. 2. Estudio del tiempo de incubación en la actividad lipasa de *Acinetobacter*.

Conclusiones. De las cepas de *Bacillus* y *Acinetobacter* se logró inducir la expresión de la actividad lipolítica de las células de *Acinetobacter*, bajo parámetros de pH 7, temperatura de 30 °C y usando aceite de oliva como inductor. De los medios utilizados, se presentó mayor actividad en el medio 2, por lo que se seleccionó para realizar estudios posteriores, en donde se adecuarán el pH y temperatura con el fin de obtener concentrados enzimáticos con alta actividad lipolítica.

Agradecimiento. A CONACYT por la beca de maestría otorgada para el desarrollo de este trabajo.

Bibliografía.

1. Jaeger K-E., Dijkstra B.W., Reetz M.T. (1999). *Annu. Rev. Microbiol.* 53: 315-51.
2. Arpigny J.L., Jaeger K-E. (1999). *Biochem. J.* 343: 177-183.
3. Van den Burg B. (2003). *Current Opinion in Microbiol.* 6: 213-218.
4. Mauricio-Benavides J.E. (2010). *Estudio de la biodiversidad procarriota de algunas zonas de la Reserva Ecológica de Cuatrociénegas, Coahuila y regiones aldañas, con prospectivas biotecnológicas.* Tesis de doctorado. Universidad Autónoma de Coahuila, Saltillo. 1-217.
5. Hurtubise Y. (2001). Rhodamine B agar preparation procedure. *Quality Control Method-99. Choisy Laboratories in Toronto, Canada.