

# PRODUCCION DE LIPASAS DE HONGOS TERMOFILOS CULTIVADOS EN MEDIOS LIQUIDOS Y SOLIDOS

Jesús Córdova López<sup>1</sup> y Sevastianos Roussos<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Dep. de Ing. Química, CUCEI, Universidad de Guadalajara. Blvd. García Barragán y Calz. olímpica, 44840 Guadalajara, Jal. FAX: (01) 36194028. E-mail: cordova@cencar.udg.mx

<sup>2</sup> Lab. de Microbiologie, IRD- Université de Provence, 163, Av. de Luminy F13228, Marseille, France

Palabras clave: Lipasas, hongos termófilos, Fermentación en Medio Sólido.

**Introducción.** Aún cuando los estudios sobre lipasas comenzaron hace aprox. 150 años, el primer reporte sobre la producción de lipasas por un hongo termófilo (*Humicola lanuginosa*) data de 1972 (1). Actualmente, los trabajos publicados referentes a este tema son escasos. Sin embargo, dos de los aspectos más relevantes para estudiar a profundidad este tema son que las enzimas serían producidas rápidamente, debido a las altas velocidades metabólicas de los hongos termófilos, y serían además termoestables. Las enzimas son producidas principalmente por fermentaciones en medios líquidos (FL) o sólidos (FMS). Sin embargo, a menudo es admitido que usando la FMS se pueden obtener productividades más elevadas de enzimas (2). Para confirmar lo anterior, una serie de experimentos fueron llevados a cabo para comparar la producción de lipasas de 23 hongos termófilos y 8 hongos termotolerantes utilizando condiciones similares en ambos tipos de cultivo (FMS y FL).

**Metodología.** Hongos termófilos: Colecciones CBS e IRD: *Rh. pusillus* (21), *Rh. microsporus* (8) y *Rh. miehei* (2). Medio de cultivo (g/l): Bactopeptona, 50; Glucosa, 20; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1; NaNO<sub>3</sub>, 1; MgSO<sub>4</sub>. Descripción del dispositivo de FMS (3). Condiciones de cultivo en FMS: Materia húmeda por columna, 30g; inóculo, 5X10<sup>6</sup> esporas/ml de medio impregnado; temperatura de incubación, 47°C; humedad, 75%; pH inicial, 5.4. Condiciones de cultivo en FL: Matraces (250 ml) conteniendo 70 ml de medio de cultivo fueron inoculados e incubados en agitación (110 RPM). Técnicas analíticas: Glucosa, proteína y lipasas fueron medidas de acuerdo a las técnicas propuestas por: Miller (1959), Bradford (1976) y Córdova *et al.* (1998) (4).

**Resultados y discusión.** Inicialmente se llevaron a cabo cinéticas de consumo de sustratos y biosíntesis de productos para algunos hongos representativos de las especies estudiadas, tanto en FMS como en FL. En los dos tipos de cultivo, se encontró una correlación entre la producción de lipasas, con la producción de proteínas y CO<sub>2</sub>, con el consumo de glucosa y O<sub>2</sub>, y con el aumento de pH (Fig. 1). En FMS, se encontró un tiempo de cultivo corto para alcanzar la máxima producción de lipasas (12h), siendo el mismo para las tres especies de hongos termófilos estudiadas. Por otro lado, en FL, el tiempo de cultivo para alcanzar la máxima producción de lipasas fue mucho más largo y variable para cada especie, siendo de 120h para *Rh. pusillus* y *Rh. miehei*, y de 70h para *Rh. microsporus*. También, la producción de lipasas fue variable para cada

cepa y para cada tipo de cultivo. En FL, las cepas de *Rh. pusillus* produjeron en promedio 0.1 U/ml. Entre las cepas de *Rh. microsporus*, únicamente la cepa 13a sintetizó las lipasas a concentraciones importantes (5.7 U/ml). En el caso de las cepas de *Rh. miehei*, no presentaron biosíntesis de la enzima. Por otro lado, en FMS, las cepas de *Rh. pusillus* produjeron en promedio 1.3 U/ml de medio absorbido. Entre las cepas de *Rh. microsporus*, únicamente la cepa 13a produjo lipasas (2 U/ml). Sorprendentemente, las cepas de *Rh. miehei*, sintetizaron hasta 21 U/ml en promedio en este tipo de cultivo.

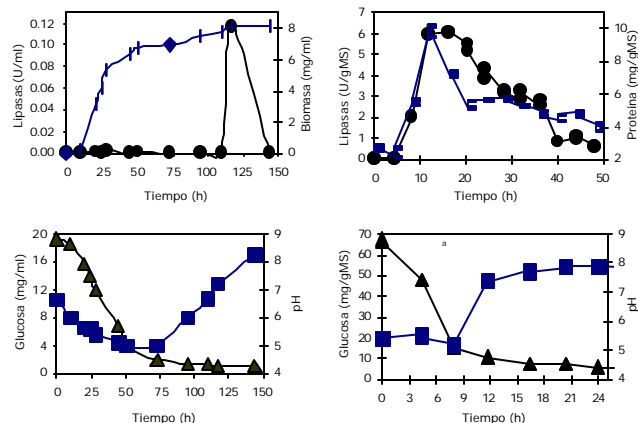


Fig. 1 Cultivo de *Rh. pusillus* (cepa 8a) en medios líquido (izquierda) y sólido (derecha). Cinéticas de crecimiento (●), de síntesis de lipasas (■) y proteínas (▲), de consumo de glucosa (◆)

**Conclusiones.** Este estudio muestra que la biosíntesis de lipasas es diferente para cada tipo de cultivo y que las productividades en lipasas son mucho más elevadas en FMS. Además, cabe señalar que las lipasas producidas en FL son principalmente intracelulares (hasta en un 90%), en tanto que en FMS son extracelulares.

**Agradecimiento.** Los autores agradecen a Conacyt por el financiamiento en la presente investigación (I29925-B).

## Bibliografía.

1. Arima, K., Liu, W.H. & Beppu T. (1972). Isolation and Identification of the Lipolytic and Thermophilic Fungus. *Agr. Biol. Chem.* 36:(11) 1913-1917.
2. Smits, J.P., Rinzema, A., Tramper, J., van Sonsbeek, H.M., Hage, J.C., Kaynak, A. & Knol, W. (1998). The influence of temperature on kinetics in solid state fermentation. *Enzyme and Microbial Technology.* 22: 50-57.

3. Rimbault, M. y Alazard, D. (1980). Culture method to study fungal growth in solid fermentation. *Eur. J. Appl. Microb. Biotechnol.* **9**:199-209.

4. Córdova, J., Nemmaoui, M., Ismaili-Alaoui, M., Morin, A., Roussos, S., Rimbault, M & Benjilali, B. (1998). Lipase production by solid state fermentation of olive cake and sugar cane bagasse. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic.* **5**: 75-78.