



CINÉTICAS DEL CRECIMIENTO Y DE LA PRODUCCIÓN DE ENZIMAS LIPOLÍTICAS DE LA ARQUEA HALÓFILA EXTREMA *NATRONOCOCCUS* SP.TC6

Jesús Antonio Reyes Conde, Jonathan Simental Cruz, Evelyn Romero Borbón, Jesús Antonio Córdova López
Universidad de Guadalajara, CUCEI, Dep. de Química, Guadalajara, Jal, México, 44430.
jesuscordovaudg@yahoo.com.mx

Palabras clave: Natronococcus, enzimas lipolíticas, halófilo extremo

Introducción.

Las enzimas lipolíticas son los biocatalizadores más versátiles empleados en los procesos biotecnológicos, tanto en la hidrólisis, como en la síntesis de enlaces ésteres. Sin embargo, la mayor parte de las enzimas lipolíticas conocidas, son producidas por microorganismos no extremófilos, las cuales no suelen ser estables en condiciones de alta temperatura y/o en sistemas con baja actividad de agua (1). Por lo tanto, la búsqueda de enzimas robustas, capaces de soportar las condiciones de reacción agresivas, frecuentemente usadas en la industria, es de gran relevancia. Una propuesta para resolver este problema, es el empleo de enzimas obtenidas a partir de microorganismos extremófilos, y en particular de halófilos, como *Natronococcus* sp. TC6, una arquea aislada en el Oasis, Sebka El Golea, en el desierto del Sahara, Argelia (2)

Metodología.

Cultivos de *Natronococcus* sp. TC6. Se llevaron a cabo, utilizando dos medios de cultivos (ambos conteniendo 234 g/L de NaCl): Medio de Gibbons y Medio de Martín del Campo (M.C.) (3). La biomasa fue calculada empleando una curva estándar que relacionó el peso seco con la absorbancia leída a 600 nm.

Determinación de la actividad lipolítica. Se midió espectrofotométricamente, empleando *p*-nitrofenil-octanoato como sustrato y reportada como Unidades/Litro (U/L) (4). La actividad se determinó en el medio de cultivo completo (medio líquido + células, Enzima total), en el medio líquido (sobrenadante, Enzima libre) y en las células lavadas (Enzima ligada a la cubierta celular). Todas las mediciones fueron realizadas por duplicado y los datos en los gráficos representan el promedio y su desviación estándar.

Resultados.

Las cinéticas de crecimiento de *Natronococcus* sp. TC6 fueron correctamente ajustadas mediante el modelo logístico ($R^2=0.98$), revelando una muy baja fase *lag*, una mayor velocidad de crecimiento específico en el cultivo, empleando el medio M.C. (0.078 h^{-1}) que con el medio Gibbons (0.058 h^{-1}) y una mayor cantidad de biomasa máxima para el medio Gibbons (15.6 g/L) que para el medio M.C. (11.6 g/L) (**Figura 1**).

Por otra parte, se obtuvo una mayor actividad enzimática empleando el medio Gibbons (Enzima total de 51.2 U/L), que con el medio M.C. (Enzima total de 32.5 U/L). Además, se observó que la mayor actividad lipolítica fue localizada ligada a la pared celular del microorganismo (86%, 38.9 U/L) que de forma extracelular (14%, 6.4 U/L) (**Figura 2**). Estos experimentos revelan la necesidad de realizar un proceso de extracción de las enzimas ligadas a la pared celular.

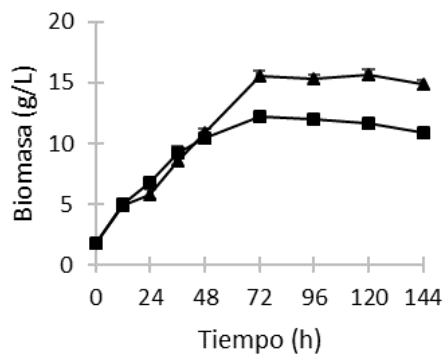


Fig. 1. Cinéticas de crecimiento de *Natronococcus* sp., empleando el medio Gibbons (▲) y el medio M.C. (■). Las líneas representan el ajuste del modelo Logístico calculado a partir de la cantidad de biomasa obtenida en g/L. Los datos representan el promedio y la desviación estándar de los ensayos.

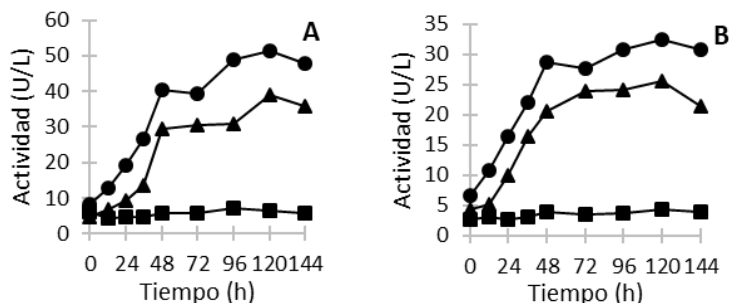


Fig. 2. Cinéticas de la producción de enzimas lipolíticas de *Natronococcus* sp., empleando el medio de Gibbons (A) y el medio M.C. (B). Enzima total (●), Enzima ligada a la cubierta celular (▲) y Enzima libre (■).

Conclusiones.

Las mayores producciones de biomasa y de enzimas lipolíticas de *Natronococcus* sp. TC6 fueron obtenidas, empleando el medio de Gibbons. La producción de enzimas estuvo directamente relacionada con el crecimiento celular. La actividad enzimática fue mayoritariamente ubicada como ligada a la pared celular (80 %?), siendo necesario un proceso de extracción, para continuar con un protocolo de purificación.

Agradecimientos. Al Fondo Sectorial de Investigación para la Educación (Proy. No. 256926) y a CONACYT por la beca de Maestría de Jesús Reyes.

Bibliografía.

- Delgado-García M, et al. (2012). *J Sci Food Agric.*;92(13):2575–80.
- Bhatnagar T, et al. (2005) *FEMS Microbiol Lett.*;248(2):133–40.
- Martin del Campo M, et al. (2015). *Extremophiles.*;19(6):1121–32.
- Camacho RM, et al. (2009). *J Ind Microbiol Biotechnol.*;36(7):901–9.

