



CAPACIDAD DE PRODUCCIÓN DE LIPASAS EN UNA COLECCIÓN DE CEPAS DE *Yarrowia lipolytica*.

Gloria Dhení Guaní Sánchez, Blanca Estela Gómez Luna y Adán Topiltzin Morales Vargas. Universidad de Guanajuato, Celaya 38060, topiltzin.morales@ugto.mx

Palabras clave: *Yarrowia lipolytica*, lipasas, levadura oleaginoso.

Introducción. En los últimos años, *Yarrowia lipolytica* ha surgido como una importante levadura no convencional con relevancia biológica y aplicaciones biotecnológicas significativas (1). Entre los metabolitos producidos por *Y. lipolytica*, uno de los más importantes es la una lipasa extracelular LIP2, una novedad que ha aumentado el interés de los científicos por sus aplicaciones tecnológicas, más amplias en las áreas de producción de alimentos, farmacéuticos, detergentes y biocombustibles. (2,3). La producción de esta lipasa extracelular es estimulada por la presencia de ácidos grasos de cadena larga, triacilgliceroles y fuentes de nitrógeno orgánico (4,5,6).

El objetivo del presente trabajo es la evaluación de la capacidad de producción de lipasas en una colección de aislados de *Yarrowia lipolytica*.

Metodología. Se cuenta con 31 cepas de *Yarrowia lipolytica* que fueron aisladas a partir de productos cárnicos y lácteos.

Con la finalidad de evaluar la producción de lipasas en las cepas de *Y. lipolytica*, se implementaron las siguientes fuentes de carbono o nitrógeno en el medio YNB (Yeast Nitrogen Base Without Amino Acids – Sigma Aldrich) de acuerdo con la metodología propuesta por Fickers *et al.* 2003: YNBT, 10 ml de tributirina; YNBTD, 10 ml de tributirina y 10 g de glucosa; YNBTG, 10 ml de tributirina y 10 ml de glicerol; YNBD, 2 g de glucosa y 2 g de peptona de caseína; YNBG, 2 ml de glicerol y 2 g de peptona de caseína; YNBO, 5 ml de ácido oleico y 2 g de peptona de caseína y YNBM, 2 g de Coffee-Mate.

Las células de la levadura primero se hicieron crecer en medio líquido YEPD (yeast extract, 1%; peptone, 2% ; glucose, 2%) inoculado con preinóculo a 28° C y agitación constante a 150 rpm en 50 ml de YEPD a la fase exponencial, centrifugada a 5 000 rpm durante 5 min, lavada dos veces con agua estéril y diluido a $DO_{\lambda=600nm}$ de 0.1

Los medios YNB, YNBD, YNBG, YNBO, YNBM, YNBT, YNBTD y YNBTDG fueron inoculados con 15 μ l de esta suspensión con inoculación por triplicado para cada cepa. En el medio sólido el crecimiento microbiano se midió de manera cualitativa de acuerdo con el diámetro de la colonia.

Resultados En los medios de tributirina YNBT, YNBTD y YNBTDG es posible apreciar cualitativamente la hidrólisis de la tributirina gracias a la presencia de la lipasa extracelular, esto debido a la formación de un halo alrededor de la colonia. Por otra parte, para los medios YNB, YNBD y YNBG que son aquellos que contienen como fuente de carbono glucosa o glicerol la actividad extracelular de la lipasa no se detecta, debido a la falta de un inductor como triacilgliceroles o ácidos grasos de cadena larga. Por último, la actividad de la lipasa no se detecta en los medios YNBO y YNBM con fuentes de carbono como el ácido oleico y Coffee-Mate respectivamente, posiblemente por la falta de una emulsión estable que nos permita observar este efecto.

En la figura 1 se muestra cajas Petri con medio YNBT, YNBD, YNBM y YNBO inoculadas con las cepas 18, 19 y 21 por triplicado. Se observa que en el medio YNBT la cepa 21 presenta la formación del halo debido a la hidrólisis de la tributirina por la lipasa, por el contrario, para el resto de los medios no es posible apreciar la hidrólisis de las respectivas fuentes de carbono de cada medio para las mismas cepas.

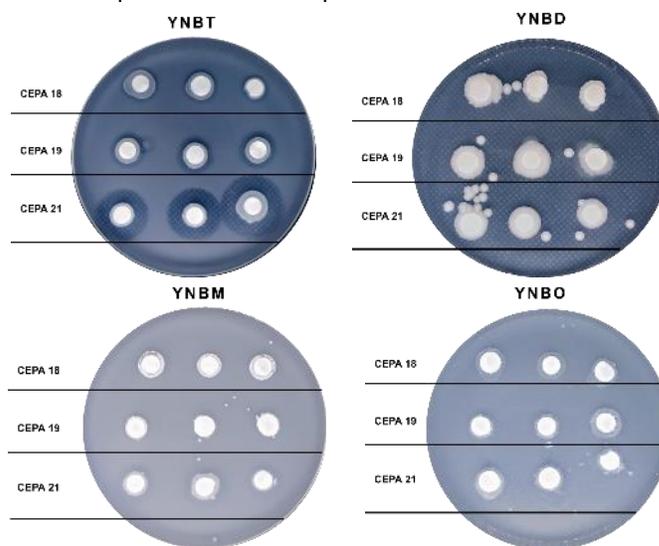


Fig. 1 Comparación de la producción de la lipasa extracelular entre los medios YNBT, YNBD, YNBM y YNBO para las cepas 18, 19 y 21.

Conclusiones.

Se evaluó la capacidad de producción de la lipasa extracelular LIP2 en las cepas dentro de la colección de *Yarrowia lipolytica*, destacando que algunas de ellas podrían ser utilizadas en aplicaciones industriales.

Las fuentes de carbono como glucosa y glicerol generan un mecanismo de represión para la lipasa LIP2, mientras que para fuentes de carbono como tributirina se mostró favorecedor para una mayor producción de lipasa.

Bibliografía.

- 1 Spencer JFT, Ragout de Spencer AL, Laluece C. (2002). *Appl Microbiol Biotechnol.* 58(2):147–156.
- 2 Nicaud JM. (2012). *Yeast*, 29:409–418.
- 3 Barth G, Gaillardin C (1997). *FEMS Microbiol Rev* 19(4):219– 237.
- 4 Novotny C *et al.* (1988) *J. Basic Microbiol* 4:221–227.
- 5 Pereira-Meirelles FV, Rocha Leao NHM, Sant'Anna GL Jr (1997). *Appl Biochem Biotechnol.* 63–65:73–85.
- 6 Corzo G, Revah S (1999) *Bioresour Technol.* 70:173–180.
- 7 Fickers P *et al.* (2003) *Appl Microbiol Biotechnol.* 63:136–142

