

PRODUCCION DE LIPASAS POR HONGOS TERMOFILOS EN FERMENTACION EN MEDIO SOLIDO Y EN MEDIO LIQUIDO

J.Córdova y S.Roussos

Laboratoire de Biotechnologie, Centre ORSTOM, BP 5045, 34032 Montpellier Cedex 1, France.

Fax. (+33-4) 67416283 ; E mail: cordova@melusine.orstom.mpl.fr

Palabras claves: Lipasas, Hongos termófilos, FMS

Introducción: Un hongo es termófilo si es capaz de crecer a temperaturas superiores a 45°C, pero incapaz de desarrollarse a temperaturas inferiores a 20°C. Es termotolerante, si además de crecer a temperaturas superiores a 45°C, también puede crecer a temperaturas inferiores a 20°C (1). Una de las enzimas producidas por estos hongos son las lipasas, utilizadas ampliamente en la industria alimentaria, en la farmacéutica, en detergentes y en química orgánica. Las lipasas pueden definirse como glicerol-ester hidrolasas que para su activación necesitan el contacto de una interface lipidoacuosa.

Material y métodos: Las cepas de hongos fueron aisladas y purificadas en medio de cultivo a base de coco, incubandolos a 50°C. El medio de cultivo usado por la producción de lipasas fué (g/L): Peptona, 50; Glucosa, 20; NaNO₃, 1; KH₂PO₄, 0.5; MgSO₄, 0.5 En las Fermentaciones en Medio Solido (FMS) el medio se absorbió en bagazo de caña (México) y en su momento, se suplementó con residuos de aceituna (Marruecos), después de la extracción del aceite. El análisis de lipasas se llevó a cabo empleando una emulsión de aceite de oliva, cuantificando los ácidos grasos liberados (AG) después de la incubación con el extracto enzimático. Una unidad se definió como un $\mu\text{mol AG/min}$ a 47°C y 8.7 de pH.

Resultados y discusiones: 46 nuevas cepas de hongos termófilos y termotolerantes fueron aislados de muestras de coco y suelo en zonas cocoteras de Guerrero y en plantas en Edo. de México. Entre ellas, una cepa de *Rhizopus microsporus* (termotolerante) y otra de *Rhizomucor pusillus* (termófila) fueron seleccionadas para la producción de lipasas. Ambas cepas fueron cultivadas en medio líquido (CML) y en medio sólido (FMS). Durante los cultivos se realizaron cinéticas de la producción de lipasas, proteínas y CO₂ así como del consumo de glucosa y de O₂.

En la tabla 1 se observa que que en CML se alcanzó un máximo en la producción de lipasas al cabo de 120h de cultivo, con *R.pusillus* y *R.microsporus* de 0.1 y 0.6 U/ml, respectivamente. En tanto que en FMS (I) se obtuvo un máximo de producción en 12h de 1.7 y 1 U/ml, respectivamente. Posteriormente, al suplementar la FMS I con residuos de aceituna (FMS II) se observó en 24h un máximo de 10 y 40 U/ml, respectivamente. El aumento en la producción de la lipasa, debida la adición de residuos de aceituna, indica la necesidad de agregar un indicador de la enzima al medio de cultivo.

Tabla 1. Producción de lipasas (U/ml) por *R.microsporus* y *R.pusillus* en cultivos líquido y sólido.

Cepas	CML	FMS (I)*	FMS (II)*
<i>R.microsporus</i>	0.6	1	10
<i>R.pusillus</i>	0.1	1.7	40
Tiempo (h) **	120	12	24

* FMS (II) fué suplementada con residuos de aceituna y FMS (I) no lo fué.

** El tiempo indica el momento en donde se detectó la máxima actividad enzimática

Por otro lado, se encontró que el contenido de proteína, la producción de CO₂, de consumo de glucosa y del O₂, así como, el aumento en el pH están relacionados con la producción de la lipasa y que pueden ser considerados como parámetros indirectos que revelan la biosíntesis de la enzima (datos no mostrados).

Conclusiones: Los hongos termófilos y termotolerantes pueden emplearse en un proceso de FMS, aprovechando sus altas actividades metabólicas y en consecuencia, su alta velocidad de síntesis enzimática, posiblemente termoestables (2). Además, con el empleo de estos hongos, podrían evitarse los daños celulares causados por la acumulación de calor metabólico en el medio tan usuales en los procesos de FMS (3). Este trabajo pone en evidencia la ventaja que tienen los procesos de FMS sobre los cultivos líquidos, relacionada con las altas productividades en lipasas, las cuales llegan a ser más elevadas que las reportadas hasta la fecha, aún para microorganismos manipulados genéticamente. Estos resultados muestran la posibilidad de aprovechar desechos de la industria azucarera y aceitera.

Agradecimientos: J.Cordova agradece CONACYT-Sfère y el ORSTOM por el financiamiento otorgado para este trabajo de su tesis de doctorado.

Referencias

1. Cooney, D.G. and Emerson, R. (1964) Thermophilic fungi. Freeman W.H. and Company. San Francisco, pp 3-7
2. Barbier, G. (1994). Micro-organismes thermophiles et enzymes thermostable. Bull. Soc. Fr. Microbiol. 9:13-18.
3. Saucedo-Castañeda, G. Gutierrez-Rojas, M. Bacquet, G., Rambault, M. and Viniestra-González, G. 1990. Heat transfer simulation in solid state fermentation. *Biotechnol. Bioeng.* 35: 802-808

Cordova E., Roussos Sevastianos. (1997).

Produccion de lipasas por hongos termofilos en fermentacion en medio solido y en medio liquido.

In : Memorias : 7. congreso nacional de biotecnologia y bioingenieria Mazatlan'97 y 2. simposio internacional sobre ingenieria de bioprocesos.

Mexico : ORSTOM ; UNAM, p. 445.

Biotecnologia y Bioingenieria Mazatlan'97 : Congreso Nacional; Ingenieria de Bioprocesos : Simposio Internacional, 7.; 2., Mexico (MEX), 1997.