

EDITORIAL

PRODUCCIÓN BIOTECNOLÓGICA DE LIPASAS MICROBIANAS, UNA ALTERNATIVA SOSTENIBLE PARA LA UTILIZACIÓN DE RESIDUOS AGROINDUSTRIALES

BIOTECHNOLOGICAL PRODUCTION OF MICROBIAL LIPASES, A SUSTAINABLE ALTERNATIVE TO THE USE OF AGRO-INDUSTRIAL WASTES

Lipasas

Los lípidos son biomoléculas orgánicas ampliamente distribuidas en la biomasa de la tierra, siendo las enzimas denominadas lipolíticas o lipasas las encargadas de la degradación de estas moléculas insolubles en agua. Las lipasas se han estudiado desde hace más de 300 años, sin embargo, su capacidad para catalizar la hidrólisis y sintetizar esteres ha sido reconocida apenas hace 70 años (1). Este tipo de enzimas revisten de gran importancia en la industria por sus múltiples aplicaciones debido a que llevan a cabo la degradación de sustratos con alto contenido graso así como en reacciones de esterificación en la industria alimenticia, farmacéutica y cosmética. Las lipasas han sido encontradas en muchas especies de animales, plantas y microorganismos. Sin embargo, las lipasas microbianas son mucho más versátiles y presentan características interesantes como estabilidad en solventes orgánicos, actividad bajo diversas condiciones, alta especificidad de sustrato, así como regio y enantio selectividad (2).

Las lipasas son sintetizadas por los microorganismos preferencialmente en presencia de inductores como son los lípidos. Estas moléculas y otras sustancias presentes en los residuos agroindustriales permiten el crecimiento de los microorganismos y actúan como sustancias inductoras para la producción de lipasas microbianas. Se ha demostrado que los aceites naturales como el aceite de soya, los ácidos y ésteres grasos como los jabones, los esteroides como el colesterol, las sales biliares y detergentes se comportan como inductores y por ello son ampliamente utilizados para la producción de lipasas microbianas (3). Se ha encontrado que los niveles de producción de lipasas microbianas varían significativamente entre las diferentes especies de microorganismos, por ello es indispensable la presencia de una fuente de carbono de naturaleza lipídica (4).

Aplicaciones biotecnológicas de las lipasas

Hoy en día los procesos desarrollados en la industria que son catalizados por enzimas son mucho más numerosos, debido a que presentan una serie de ventajas frente a los catalizadores no biológicos convencionales. Las lipasas microbianas constituyen uno de los grupos más importantes de biocatálisis por sus amplias e importantes aplicaciones en la industria alimentaria, como la producción de grasas con propiedades físicas y químicas deseables, además de contener una baja proporción de grasas trans en el producto final, a diferencia de los procesos de hidrogenación y transesterificación química. Estas enzimas catalizan una amplia variedad de reacciones como la hidrólisis parcial o total de triacilglicéridos y reacciones de esterificación, transesterificación e interesterificación de los lípidos en medios no acuosos (5). El interés en la producción biotecnológica de las lipasas radica en sus diversas aplicaciones como aditivos alimentarios en la modificación del sabor, síntesis de ésteres con una importante actividad antioxidante, hidrólisis de grasas para la fabricación de detergentes, tratamiento de aguas residuales específicamente en la degradación y remoción de sustratos grasos (aceitosos), eliminación de lípidos y aceites en la industria cosmética y farmacéutica, así como en el tratamiento de los cueros en la industria marroquinera (6). Así mismo, recientemente gracias a su capacidad para llevar a cabo reacciones de transesterificación las lipasas han adquirido un papel muy importante en la producción de biocombustibles, como resultado de la creciente demanda mundial en el uso de energía renovable.

A pesar de las grandes ventajas que representa la aplicación de las lipasas en diferentes tipos de industrias, frecuentemente sus altos costos de producción limitan su uso. Por ello, la investigación se ha enfocado en la búsqueda y utilización de diferentes microorganismos y sustratos que permitan obtener a escala industrial estas enzimas utilizando condiciones de operación que faciliten la reducción de los costos de producción y se convierta en un proceso biotecnológico económicamente viable. Lo anterior puede lograrse con el empleo de sustratos económicos considerados como un desecho como son los residuos agroindustriales.

Microorganismos productores de Lipasas

Los microorganismos con un alto potencial para producir lipasas pueden ser encontrados en diferentes hábitats, principalmente en desechos o residuos de aceites vegetales empleados en la elaboración de frituras, industrias de productos lácteos, suelos contaminados con aceites y alimentos deteriorados. Lo anterior indica que el mismo ambiente natural nos ofrece un amplio potencial para aislar nuevas fuentes de lipasas con propiedades novedosas. A partir de éstos nichos se han aislado bacterias, hongos filamentosos, levaduras y actinomicetos, entre los que sobresalen los géneros *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhodococcus*, *Staphylococcus*, *Rhizopus*, *Mucor*, *Candida*, *Aspergillus* y *Geotrichum* sp por su capacidad para producir lipasas extracelulares, facilitando de esta manera, la recuperación de estas enzimas a partir del medio de cultivo (7). Dado que las lipasas se encuentran entre las enzimas más ampliamente utilizadas en procesos biotecnológicos y en procesos químicos, la investigación se ha enfocado en la búsqueda de nuevos microorganismos con diferentes propiedades lipolíticas deseadas.

A pesar del gran número de microorganismos productores de lipasas, sólo unas pocas especies de bacterias se han evaluado para la producción de lipasas adaptadas al frío. Se ha reportado algunas cepas productoras de lipasas a temperaturas bajas como *Acinetobacter* sp., *Achromobacter lipolyticum*, *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus sphaericus*, *Photobacterium lipolyticum*, *Morexella* sp., *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas fragi*, *Psychrobacter okhotskensis*, *Serratia marcescens* y *Staphylococcus epidermidis* (8).

Asimismo, se ha evaluado diferentes especies de los mohos como *Aspergillus* y *Penicillium* para la producción de lipasas extracelulares en medios de cultivo sólidos y líquidos utilizando como agente inductor aceite de oliva. De estos estudios se ha encontrado que las especies *A. alliaceus*, *A. candidus*, *A. carneus*, *A. fischeri*, *A. niger*, *A. ochraceus*, *A. parasiticus*, *A. sundarbanii*, *A. terreus*, *A. versicolor*, *P. aurantiogriseum*, *P. brevicompactum*, *P. camemberti*, *P. chrysogenum* I, *P. coryniferum* I, *P. crustosum*, *P. egyptiacum*, *P. expansum* y *P. spiculispurum* presentan los más altos niveles de producción de lipasas, representando una importante fuente y un gran potencial para su producción biotecnológica (9).

Entre las levaduras, el género *Cándida* es el microorganismo que presenta el mayor potencial para producción de lipasas que ha sido reportado en la literatura. Las lipasas producidas por *C. rugosa* se han convertido en unas de las más utilizadas por la industria, debido a su alta actividad en procesos tanto de hidrólisis como de síntesis, por ejemplo en la producción de ácidos grasos a partir de aceite de ricino (10). Se ha reportado otras levaduras potenciales productoras de lipasas con altos niveles de producción tales como *Trichosporon asahii* (11), *Candida cylindracea* (12); *Aureobasidium pullulans* (13), *Saccharomyces cerevisiae* (14); *Yarrowia lipolytica* (15); *Pseudozyma hubeiensis* HB85A, *Debaryomyces occidentalislike* HB83 y *Cryptococcus* sp. HB80 (16).

Sustratos agroindustriales

Como ya se mencionó, una gran variedad de microorganismos secretan lipasas durante su crecimiento en residuos orgánicos y agroindustriales, ya que éstos contienen una abundante fuente de nutrientes que sirve como medio de cultivo para que los microorganismos sean capaces de producir estas enzimas. Sin embargo, no existe una amplia disponibilidad de lipasas que presenten características específicas para un determinado tipo de aplicación. Esto último representa un factor limitante y es por ello que la investigación de nuevas enzimas lipasas con características diferentes, así como la determinación de las condiciones óptimas para la producción de dichas enzimas a partir de desechos o residuos agroindustriales continúa siendo de gran interés. De ésta manera, la producción de lipasas es un proceso que en gran medida depende del microorganismo empleado. Sin embargo, además del microorganismo también desempeñan un papel fundamental en el proceso de producción de estas enzimas el tipo de cultivo, ya sea mediante fermentación líquida o en estado sólido, la composición del medio y el tipo de reactor.

Los residuos agroindustriales son un gran problema ambiental ya que representan un importante desecho de una gran variedad de industrias, principalmente las del sector alimenticio. Generalmente, estos residuos son vertidos al ambiente, lo que conlleva a la contaminación ambiental, principalmente de los cuerpos de agua y suelos. Algunos usos dados a este tipo de residuos es, por ejemplo, utilizarlos como alimento para ganado. Sin embargo esta estrategia sólo resuelve de manera parcial el problema, ya que el volumen en que son generados estos desechos es mayor que el de su demanda como alimento. Por lo anterior, hoy en día, los residuos agroindustriales representan un gran potencial para ser empleados en procesos de base biotecnológica, debido a su bajo costo y su composición nutricional, ya que representan una fuente importante de carbono, nitrógeno y minerales, que pueden ser utilizados como sustrato para el crecimiento de los microorganismos y la producción de compuestos de alto valor agregado derivados de su metabolismo, como el caso de las lipasas. De ésta manera, se contribuye a la resolución de problemáticas de contaminación ambiental causados por la disposición de estos residuos; además, se reduce la emisión de dióxido de carbono al ambiente.

Los residuos obtenidos a partir de la extracción de aceites han sido utilizados para la producción de lipasas, principalmente por medio de fermentación en estado sólido, dado que los contenidos grasos residuales se comportan como agentes inductores para la producción de lipasas. Una gran variedad de residuos agroindustriales derivados del salvado y bagazo de maíz, trigo, arroz, soya, cebada y caña de azúcar así como las pastas o residuos grasos de semillas de oliva y girasol han sido reportados como muy efectivos para la producción de lipasas (17).

Los residuos agroindustriales derivados de las industrias alimenticias empleados para la producción de lipasas contienen tanto sustratos fácilmente asimilables como sustratos no asimilables y compuestos de naturaleza lipídica que permiten el crecimiento de una amplia variedad de microorganismos y a su vez actúan como inductores para la producción de lipasas microbianas. Además del aporte de nutrientes necesarios para el crecimiento de los microorganismos por parte de los residuos agroindustriales, éstos también permiten que las células microbianas se anclen al sustrato y puedan crecer adheridos a éste. De esta manera, todos los sustratos que proporcionan éstas características para el crecimiento y producción de lipasas por parte de los microorganismos son los sustratos más adecuados para llevar a cabo la producción biotecnológica de estas enzimas.

Dado que algunos residuos agroindustriales están constituidos por matrices poliméricas muy complejas, como la lignina, es necesario realizar algunos pre-tratamientos químicos o mecánicos antes de utilizarlos como sustratos para la producción de enzimas. Los pre-tratamientos térmicos, la hidrólisis química y la reducción del tamaño de partícula frecuentemente son utilizados para incrementar la accesibilidad y biodisponibilidad de los nutrientes para permitir el crecimiento adecuado y la producción de lipasas por parte de los microorganismos (18).

Los residuos agroindustriales fibrosos son subproductos de origen lignocelulósico, que por su contenido de fibra son poco digeribles, pero que por sus características sirven como un buen soporte físico y además proporcionan fuentes de carbono y nutrientes para permitir el crecimiento microbiano. En éste sentido, se ha reportado la producción exitosa de lipasas de *C. rugosa*, *A. niger* y *R. pusillus* mediante fermentación en estado sólido, utilizando como sustrato el salvado de trigo, cascarilla de arroz y maíz, harina de soya o bagazo de caña de azúcar mezclado con desechos grasos a partir de aceite de coco, sésamo y oliva (19). En conclusión, los efluentes de las industrias alimenticias, lácteas y los mataderos contienen una alta concentración de lípidos, donde se encuentra una fuente importante de microorganismos con gran potencial para la producción de lipasas además de poder ser utilizados como sustratos para la producción de estas enzimas.

Angel Emilio Aceves Diez Ph.D.

Gerente de Investigación y Desarrollo. Laboratorios MINKAB S.A. de C.V. (Guadalajara, México).

Laura Margarita Castañeda Sandoval Ph.D.

Profesora de la Universidad de Antioquia. Integrante del Grupo de Investigación Biomicro. Escuela de Microbiología. Universidad de Antioquia (Medellín, Colombia).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Van Der Walle N. Über synthetische Wirkung bakterieller lipasen. *Cbl Bakt Parasitenk Inktionskr.* 1927; 70: 369-73.
2. Kempka AP, Lipke NR, Pinheiro TLF, Menoncin S, Treichel H, Freire DMG. Response surface method to optimize the production and characterization of lipase from *Penicillium verrucosum* in solid-state fermentation. *Bioprocess Biosyst Eng.* 2008 Feb; 31 (2): 119 - 25.
3. Ferrer P, Montesinos JL, Valero F, Sola C. Production of native and recombinant lipases by *Candida rugosa*. *Appl Biochem Biotechnol.* 2001 Sep; 95 (3): 221 - 56.
4. Contesini FJ, da Silva VCF, Maciel RF, de Lima RJ, Barros FFC, Carvalho PD. Response surface analysis for the production of an enantioselective lipase from *Aspergillus niger* by solid state fermentation. *J Microbiol.* 2009 Oct 24; 47 (5): 563 - 571.
5. Colla LM, Rizzardi J, Pinto MH, Reinehr CO, Bertolin TE, Vieira Costa JA. Simultaneous production of lipases and biosurfactants by submerged and solid-state bioprocesses. *Bioresour Technol.* 2010 Nov; 101 (21): 8308 - 8314.
6. Burkert JFM, Maugeri F, Rodrigues MI. Optimization of extracellular lipase production by *Geotrichum* sp. using factorial design. *Bioresour Technol.* 2004 Jan; 91 (1): 77 - 84.
7. Ertugrul S, Donmez G, Takac S. Isolation of lipase producing *Bacillus* sp. From olive mill wastewater and improving its enzyme activity. *J Hazard Mater.* 2007 Nov 19; 149 (3): 720 - 724.
8. Joseph B, Ramteke PW, Thomas G, Shrivastava N. Standard review cold-active microbial lipases: a versatile tool for industrial applications. *Biotechnol Mol Biol Rev.* 2007 ; 2 (2): 39 - 48.
9. Yadav RP, Saxena RK, Gupta R, Davidson S. Lipase production by *Aspergillus* and *Penicillium* species. *Folia Microbiol.* 1998; 43 (4): 373 - 378.
10. Vakhlu J, Kour A. Yeast lipases: enzyme purification, biochemical properties and gene cloning. *Eur J Biotechnol.* 2006; 9 (1): 69 - 81.
11. Kumar SS, Gupta R. An extracellular lipase from *Trichosporon asahii* MSR 54: medium optimization and enantioselective deacetylation of phenyl ethyl acetate. *Process Biochem.* 2008; 43 (10): 1054 - 1060.
12. Salihu A, Alam MZ, Abdulkarim MI, Salleh HM. Optimization of lipase production by *Candida cylindracea* in palm oil mill effluent based medium using statistical experimental design. *J Mol Catal B: Enzym.* 2011Apr; 69 (1-2): 66 - 73.
13. Liu Z, Chi Z, Wang L, Li J. Production, purification and characterization of an extracellular lipase from *Aureobasidium pullulans* HN2.3 with potential application for the hydrolysis of edible oils. *Biochem Eng J.* 2008 Jul 1; 40 (3): 445 - 51.
14. Ciafardini G, Zullo BA, Iride A. Lipase production by yeasts from extra virgin olive oil. *Food Microbiol.* 2006 Feb; 23 (1): 60 - 7.
15. Domínguez A, Costas M, Longo MA, Sanromán A. A novel application of solid state culture: production of lipases by *Yarrowia lipolytica*. *Biotechnol Lett.* 2003 Aug; 25 (15): 1225 - 1229.
16. Bussamara R, Fuentefria AM, de Oliveira E, Broetto L, Simcikova M, Valente A, et al. Isolation of a lipase-secreting yeast for enzyme production in a pilot-plant scale batch fermentation. *Bioresour Technol.* 2010 Jan;101 (1): 268 - 275.
17. Pandey A, Soccol RR, Larroche C, editors. Current development in solid-state fermentation. Vol. 4. 2008. Singhania RR, Soccol CR, Pandey A. Application of tropical agro-industrial residues as substrate for solid-state fermentation processes. p. 412 - 442.
18. Manpreet S, Sawraj S, Sachin D, Pankaj S, Banerjee UC. Influence of process parameters on the production of metabolites in solid-state fermentation. *Malaysian J Microbiol.* 2005; 1 (2): 1 - 9.
19. Mala JGS, Edwinoliver NG, Kamini NR, Puvanakrishnan R. Mixed substrate solid state fermentation for production and extraction of lipase from *Aspergillus niger* MTCC 2594. *J Gen Appl Microbiol.* 2007 Aug; 53 (4): 247 - 53.