



Esterase production by microorganisms: importance and industrial application

Producción de esterasas por microorganismos: importancia y aplicación industrial

Brenda Hernández-Sánchez², Rubén Díaz-Godínez¹, Silvia Luna-Sánchez³, Carmen Sánchez^{1*}

¹Laboratorio de Biotecnología, Centro de Investigación en Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Tlaxcala, Ixtacuixtla, Tlaxcala, CP. 90120, México.

²Maestría en Biotecnología y manejo de Recursos Naturales, Universidad Autónoma de Tlaxcala, Ixtacuixtla, Tlaxcala, CP. 90120, México.

³Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada. Instituto Politécnico Nacional (IPN). Ex-Hacienda San Juan Molino Carretera Estatal Tecuexcomac-Tepetitla Km 1.5, Tlaxcala C.P. 90700, México.

*Corresponding author

E-mail address: carmen.sanchezh@uatx.mx (C. Sánchez)

Article history:

Received: 27 November 2018 / Received in revised form: 28 December 2018 / Accepted: 6 January 2019 / Published online: 7 January 2019.

<https://doi.org/10.29267/mxjb.2019.4.1.25>

ABSTRACT

Enzymes are very important in the biotechnological area due to the reactions of interesterification, transesterification and esterification that they are able to carry out. Microbial esterases can be secreted by filamentous fungi, yeasts or bacteria. Based on the characteristics of each of these enzymes, they can be used in the wine and dairy industries, in the degradation of complex compounds, in the bioremediation of contaminated sites, among other applications. The enzyme of interest must be characterized so that it can be produced on an industrial level. The process of industrial production of enzymes is carried out mainly in submerged fermentation. In general, this process consists of a series of steps that begin with the inoculation of the organism that must grow under optimal conditions, then the pretreatment of the enzyme of interest is undertaken, the enzyme is concentrated in

order to eliminate the excess of water and finally the purification of the product is carried out.

Keywords: Enzymes, industrial application, microbial esterases.

RESUMEN

Las enzimas esterases son de gran importancia en el área biotecnológica debido a las reacciones de interesterificación, transesterificación y esterificación que llevan a cabo. Las esterases microbianas pueden ser secretadas por hongos filamentosos, levaduras o bacterias. En base a las características de cada enzima, éstas se pueden emplear en las industrias del vino y de lácteos, en la degradación de sustratos complejos, en biorremediación de sitios contaminados, entre otras aplicaciones. La enzima de interés debe ser caracterizada para que pueda ser producida a nivel industrial. El proceso de producción industrial de las enzimas se lleva a cabo principalmente en fermentación líquida. En general, este proceso consiste en una serie de pasos que inician con la inoculación del organismo, mismo que debe crecer en condiciones óptimas, posteriormente se lleva a cabo el pretratamiento de la enzima de interés, seguido del concentrado de ésta por medio de filtración para eliminar el excedente de agua y finalmente se realiza la purificación del producto.

Palabras clave: Aplicación industrial, enzimas, esterases microbianas.

1. INTRODUCCIÓN

Las enzimas son proteínas denominadas catalizadores biológicos con alto grado de especificidad. Estas proteínas aceleran el equilibrio de una reacción bajo condiciones adecuadas, ya que portan un sitio activo de no más del 5% de la superficie proteica total, encargado de unir la proteína con el sustrato y hacer catálisis mediante enlaces iónicos, puentes de hidrógeno y fuerzas de Van der Waals (Teijón-Rivera *et al.*, 2009). Particularmente, las enzimas esterases se caracterizan por hidrolizar los enlaces de tipo éster de los compuestos. Las esterases hidrolizan cadenas cortas de ácidos carboxílicos menores a C-12, a diferencia de las lipasas que hidrolizan cadenas de triglicéridos insolubles en agua mayores a C-12. La Unión Internacional de Bioquímica y Biología Molecular (IUBMB) indica que las esterases se clasifican como hidrolasas de clase 3.1.1. x, donde “x” depende del sustrato. Las enzimas esterases son capaces de realizar tres diferentes reacciones; esterificación, interesterificación y transesterificación (Kulkarni *et al.*, 2013).

Las esterases tienen gran importancia en la fisiología y la síntesis química debido a la amplia distribución en sistemas y entornos biológicos (Martínez-Martínez *et al.*, 2018). Estas enzimas son importantes en el área biotecnológica, debido a la elevada versatilidad que las caracteriza, por lo cual son implementadas en la industria alimentaria, farmacéutica, cosmética, textil y papelería (Panda & Gowrishankar, 2005). El interés por las esterases

también se acredita a que no requieren de cofactores y se caracterizan por ser activas incluso en contacto con solventes orgánicos (Kulkarni *et al.*, 2013).

En la figura 1 se describe el mecanismo general de reacción de las esterasas, el cual comienza cuando la serina (Ser), es activada por la histidina y el ácido aspártico (His-Asp), siendo, posteriormente, la esterasa hidrolizada por una molécula de agua (Steiner & Schwab, 2012).

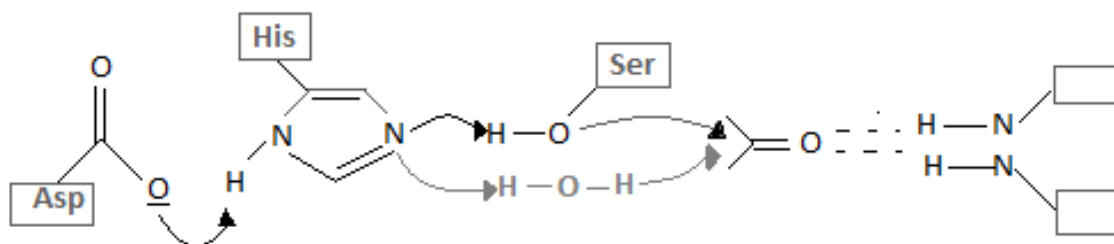


Fig. 1. Mecanismo de reacción de las esterasas donde Ser es activada por His-Asp y finalmente hidrolizada por una molécula de agua.

Los indicadores de una reacción enzimática se denominan parámetros enzimáticos, los cuales permiten comprender los mecanismos, así como mejorar el control en las reacciones enzimáticas y facilitan la comparación de diversas enzimas (Yan & Wu., 2013). Dentro de los parámetros cinéticos que se deben conocer en una enzima para identificar su mecanismo de acción se encuentran la K_m y la V_{max} . La K_m o constante de Michaelis y Menten, se define como la cantidad de sustrato requerido por la enzima para ocupar un 50% del sitio activo. Este parámetro cinético es específico para cada enzima y determina la cantidad de sustrato necesaria por enzima para obtener la mitad de la velocidad máxima para que la enzima acelere la reacción bioquímica celular. Si el valor de la K_m es bajo la enzima requiere bajas cantidades de sustrato para comenzar su función y si el valor de K_m es alto la enzima requiere mayor cantidad de sustrato para iniciar su función, siendo la velocidad de reacción será más tardada (Grajales-Muñiz, 2005). La V_{max} es la velocidad máxima que alcanza la reacción enzimática, debido a que el 100% del sitio activo de la enzima se encuentra saturado del sustrato, es decir, que a pesar de agregar sustrato, no aumenta la velocidad de reacción. Cuando la V_{max} de una enzima tiene un valor alto la velocidad de reacción es rápida, y si el valor es bajo la velocidad de reacción es lenta (Grajales-Muñiz, 2005).

Por otro lado, los hongos son organismos eucariontes que se alimentan de materia orgánica a través de la pared celular al excretar enzimas digestivas (exoenzimas) las cuales desintegran la materia orgánica compleja como polisacáridos, proteínas y grasas, para después absorber los compuestos simplificados por osmosis (García-Barajas, 2004). Los hongos se pueden clasificar en hongos levaduriformes y filamentosos. Los hongos

levaduriformes o levaduras son organismos unicelulares que pueden ser aislados del suelo, agua, plantas y animales. El tamaño aproximado de los hongos levaduriformes se encuentra entre 2 y 5 micras de ancho, y 4 y 50 micras de largo. Los hongos levaduriformes tienen alta resistencia a antibióticos, sulfamidas y antibacteriales. Las levaduras no forman esporas sobre un cuerpo fructífero, la reproducción es por brote y eventualmente por fisión (Montes-De Oca *et al.*, 2016).

Los hongos filamentosos o mohos tienen un aspecto algodonoso, de colores variados, el pigmento del hongo se difunde en el medio. El crecimiento de los hongos filamentosos es más lento que el de las levaduras, mismo que ocurre de 3 a 20 días y es de manera progresiva. El tamaño de las colonias es de 10 a 30 mm (Prats, 2006). Los hongos filamentosos crecen con hifas ramificadas que se denominan micelio. A su vez los hongos filamentosos se clasifican en ascomicetos y basidiomicetos donde el filo de basidiomicetos se caracteriza por realizar la producción de esporas sexuales (basidiosporas) en la célula basidio. La primera clasificación de los basidiomicetos es Gasteromycetes donde las esporas se forman dentro del cuerpo fructífero y generalmente son unicelulares, además, en la formación y maduración de las esporas generalmente los cuerpos fructíferos permanecen cerrados, la segunda clasificación es Hymenomycetes en la cual se forma el basidio en un himero, se caracterizan por su forma macroscópica visible como es el caso de los setas, hongo bola, hongo jelly, etc. Los grupos Ustilaginomycetes y Uredinomycetes básicamente corresponden a los parásitos de plantas (Robles-Hernández *et al.*, 2008).

El mecanismo de reproducción de los hongos ascomicetos puede ser sexual o asexual. La reproducción asexual de los ascomicetos es a partir de las hifas las cuales forman esporas o conidios que se distribuyen por medios variados. La reproducción sexual se realiza en el cuerpo fructífero, formando ascas las cuales contienen ascosporas que germinan formando micelios haploides uninucleados que al unirse con otro micelio sexualmente compatible logran la fecundación de tipo plasmogamia donde los gametos se conectan originando un cigoto por la cual se origina el cuerpo fructífero (Castiglia & Kuhar, 2013).

2. PRODUCCIÓN DE ESTERASAS POR MICROORGANISMOS Y SU APLICACIÓN

Las esterasas se pueden producir de manera constitutiva o inducible (Gandolfi *et al.*, 2000) y pueden ser excretadas por bacterias, levaduras u hongos como se muestra en la Tabla 1 donde se observa que *Aspergillus westerdijkiae* excreta serina esterasa y es considerada como un catalizador potencial ya que usa como sustrato a los ácidos grasos de cadena corta (Fernández-De Castro *et al.*, 2017). *Aspergillus fumigatus* excreta glucuronoil esterasa la cual es importante para la degradación de la lignocelulosa (Huynh *et al.*, 2018). Glucuronoil esterasa es excretada por *Neurospora crassa* donde el sustrato es la lignocelulosa al hidrolizar el enlace éster entre los alcoholes de lignina y el ácido 4-O-metil-D-glucurónico de hemicelulosa unido al xilano (Huynh & Arioka, 2016). Se ha reportado que el hongo *Pleurotus sapidus* produce esterasas en un medio enriquecido con tween 80, la enzima identificada como feruloil esterasa (Est1) hidroliza ésteres de sacáridos

feruloilados como ferilmetilo, sinapato de metilo y p -coumarato de metilo. Esta enzima mostró un pH óptimo de 6 y una temperatura óptima de 50°C, dicha esterasa se puede usar en el área ecológica (Linke *et al.*, 2012). La esterasa recombinante (RmEstA) excretada por *Rhizomucor miehe* se expresó en *Escherichia coli* dicha esterasa es capaz de sintetizar butirato de butilo por medio de la esterificación a partir de 1-butanol y ácido butírico. La esterasa fue inmovilizada en organogel de AOT y mostró el 92% de eficiencia de esterificación por ello es posible aplicarla en la síntesis de ésteres de sabor (Liu *et al.*, 2013). *Aspergillus flavus* (ITCC 6051) es capaz de degradar el 60.6% de peso de poliuretano (PU) porque dicho microorganismo excreta esterases poliuretanolíticas que permiten utilizar al PU como única fuente de carbono (Mathur & Prasad, 2012). *Fusarium culmorum* es capaz de degradar di (2-etilhexil ftalato), un plastificante usado en la industria del cloruro de polivinilo (PVC), al emplearlo como fuente de carbono y debido a la excreción de seis isoformas de esterases con pesos moleculares aproximadamente de 20, 25, 37, 45, 55 y 150, las cuales son capaces de romper los enlaces éster del compuesto ftálico. Dichas enzimas se pueden aplicar en el campo ecológico como medio de biorremediación en áreas contaminadas (Ferrer-Parra *et al.*, 2018). *Sulfobacillus acidophilus* (DSM10332) excreta la enzima EstS1 que es capaz de hidrolizar diversos ésteres de ftalato monoalquilo que se encuentran contaminando al medio ambiente (Zhang *et al.*, 2014). En la industria alimentaria las esterases destacan debido a su capacidad de reacción sobre los ésteres. Por ejemplo, las arilesterases son capaces de realizar la esterificación de alcoholes y ácidos durante el añejamiento del vino, proporcionando el aroma afrutado deseable, mismo que se relaciona directamente con la calidad de vino. El gen que expresa la arilestera excretada por *Lactobacillus plantarum* (WCFS1), fue clonado y sobreexpresado en *Escherichia coli* BL21 (DE3) y mostró una actividad hidrolítica en condiciones de vinificación (Esteban-Torres *et al.*, 2014). EstB28 proveniente de *Oenococcus oeni* es una esterasa potencial para alterar el perfil de ésteres del vino y causar un efecto importante en la síntesis de ésteres, dichas modificaciones son realizadas durante la fermentación maloláctica. La actividad de esta enzima se observó a 40°C y a un pH de 5 (Sumbly *et al.*, 2009). Las pectinesterases son una herramienta para mejorar la calidad del zumo de fruta en la elaboración de jugos. En la clarificación del jugo las enzimas rompen el polímero de la pectina por medio de reacciones de desesterificación, catalizando la desesterificación del grupo metoxilo de la pectina y produciendo ácido péctico. La temperatura óptima de este proceso se encuentra en un intervalo de 30 a 35 °C en un tiempo de 30 min a 2 horas (Verma *et al.*, 2018). En la industria de lácteos, la esterasa CL96 proveniente de *Lactobacillus casei* muestra una actividad hidrolítica en cadenas de grasas cortas y medianas, lo que permite mejorar los sabores en el queso. La esterasa CL96 mostró actividad a una temperatura óptima de 30°C y a un pH neutro (Choi & Lee, 2001). Taboada *et al.* (2014) estudiaron varias cepas de bacterias de ácido láctico aisladas de leche de cabra argentina por sus propiedades bioquímicas y actividad de esterasa relevantes para el desarrollo del sabor. Las cepas analizadas fueron *Streptococcus thermophiles* (UNSE314), *Lactobacillus* (L.) *delbrueckii* *subsp.*, *bulgaricus* (UNSE309), *L. rhamnosus* (UNSE308), *L. plantarum* (UNSE287, UNSE316, UNSE317) y *Pediococcus pentosaceus* (UNSE315). Se encontró que todas las cepas metabolizaron citrato y produjeron diacetil- acetoina y se detectó actividad de

esterasas en acetato de α -naftilo, acetato de β -naftilo, propionato, caprilato y butirato de α -naftilo. Este estudio selecciona cepas para el diseño de cultivos iniciadores (inóculos) y complementarios que contribuyan al desarrollo del sabor durante la maduración del queso (Taboada *et al.*, 2014). Lo anterior se debe a que las esterasas excretadas por bacterias de ácido láctico (LAB) catalizan la hidrólisis de glicéridos grasos y alcoholes por medio de transesterificación. Las esterasas de LAB son afines a di- y monoglicéridos para la hidrólisis y síntesis de ésteres, se denominan aciltransferasas porque usan el alcohol (alcoholisis) y el agua (hidrólisis) como aceptadores de acilo, lo que puede afectar los sabores lipofílicos y los ésteres del queso. Por ello, para controlar el sabor del queso es necesario manipular la cantidad de esterasas y regular la disponibilidad de alcohol y la cantidad de los principales glicéridos de grasa láctea (Holland *et al.*, 2004).

Las esterasas se pueden emplear en la industria óptica ya que se reportó que *Pseudomonas aeruginosa* es capaz de excretar colesteril esterasa, misma que puede ser usada en la limpieza de lentes de contacto que hayan sido teñidos con lípidos que contengan oleato de colesteril, tripalmitina y estearato de estearilo (Sugihara *et al.*, 2002).

La aplicación de las esterasas es aprovechada en otros sectores ejemplo de ello son las cinamoil esterasas las cuales son carboxil ester hidrolasas que degradan ésteres hidroxinamato y azúcares presentes en las paredes celulares de las plantas. Song & Baik (2017) reportaron un gen de *Lactobacillus helveticus* (KCCM 11223) que expresa cinamoil esterasa capaz de descomponer el ácido clorogénico en ácido cafeico y ácido quínico. El gen se expresó en *Escherichia coli*, la enzima es termófila y mostró afinidad por sustrato con metil caffeate y ésteres metílicos de los ácidos hidroxicinámicos. Cinamoil esterasa puede ser útil para hidrolizar ácido clorogénico de las paredes celulares de las plantas.

Villamil *et al.* (2016) caracterizaron la enzima esterasa LipM, previamente identificada en clones metanogénicos derivados de suelos dedicados al cultivo de papa criolla (*Solanum pureja*). La secuencia de la enzima fue clonada en el vector ρ BADgiii y expresada en *Escherichia coli*. Dicha esterasa mostró afinidad a sustratos de ρ -nitrofenilo con ácidos grasos de cadena corta menores a ocho carbonos, a una temperatura y pH de 37°C y 7.5, respectivamente. LipM se podría producir y comercializar para procesos con mercado abierto como el de transesterificación química de compuestos altamente contaminantes, producción de biodiesel o como suplemento alimenticio de animales monogástricos. Se ha reportado una esterasa intracelular excretada por *Saccharomyces cerevisiae* que puede funcionar como una hidrolasa S-formilglutaciona, es una esterasa de 40KDa de masa molecular, con temperatura óptima de 50 °C y pH óptimo de 7, tal enzima se puede aplicar en la desintoxicación de formaldehído para obtener S-formilglutación como producto final (Degrassi *et al.*, 1999).

Tabla 1. Características, sustrato, parámetros óptimos de actividad y aplicación de esterases excretadas por microorganismos.

Tipo de esterasa	Microorganismo	Familia	Sustrato	pH óptimo	Temperatura óptima (°C)	Peso Molecular (kDa)	Km (μM)	Vmax (μM/min/mg)	Aplicación	Referencia
Serina-esterasa	<i>Aspergillus westerdijkiae</i>	Trichocomaceae	Ácidos grasos de cadena corta solubles en agua	8	40	32	638.11	5.47	Como catalizador biotecnológico potencial	(Fernández-De Castro <i>et al.</i> , 2017)
Glucuronoil esterasa	<i>Aspergillus fumigatus</i>	Trichocomaceae	Hemicelulosa y lignina	5	40 a 50 (Favorable)	Nd	15.8 y 16.4	Nd	Hidrolisis de hemicelulosa y lignina	(Huynh <i>et al.</i> , 2018)
Glucuronoil esterasa	<i>Neurospora crassa</i>	Sordariaceae	Lignocelulosa	7	40 a 50 (Favorable)	32	15	1.12	Hidrólisis de lignocelulosa	(Huynh & Arioka, 2016)
Esterasa recombinante (RmEstA)	<i>Rhizomucor miehei</i>	Mucoraceae	pNP con longitudes de acilo desde C2 hasta C16	6.5	45	34	1.0, 0.17, 0.12, 0.82, 0.28 y 0.3	Nd	Síntesis de ésteres de sabor	(Liu <i>et al.</i> , 2013)
Feruloil esterasa (Est1)	<i>Pleurotus sapidus</i>	Pleurotaceae	Sacáridos feruloilados,	6	50	55	1.95	1.77	Aplicaciones ecológicas o técnicas	(Linke <i>et al.</i> , 2012).
EstS1	<i>Sulfobacillus acidophilus</i>		Ftalatos Acetato de	8	70	36	0.18	2,440	Degradación de ftalatos	(Zhang <i>et al.</i> , 2014).

Esterasa Lp-1002	<i>Lactobacillus plantarum</i> (WCFS1)	Lactobacillaceae	fenilo	5-7	40	Nd	Nd	Nd	Vinificación	(Esteban-Torres <i>et al.</i> , 2014).
EstB28	<i>Oenococcus oeni</i>		Sustratos unidos a nitrofenilo	5	40	34.5	Nd	Nd	Vinificación	(Sumbly <i>et al.</i> , 2009).
CL96 esterasa	<i>Lactobacillus casei</i>	Lactobacillaceae	Derivados de ρ -nitrofenilo de ácidos grasos (C ₂ y C ₄)	7	30	Nd	Nd	Nd	Industria láctea	(Choi & Lee, 2001).
Colesteril esterasa	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Pseudomonadaceae	Colesterilo de ácidos grasos	7	53	58	Nd	Nd	Industria óptica	(Sugihara <i>et al.</i> , 2002).
Cinamoil esterasa	<i>Lactobacillus helveticus</i> (KCCM 11223)	Lactobacillaceae	Metil ferulate, metil sinapinato, metil ρ -cumarate y metil caffeate	7	65	27.4	0.153	559.6	Hidrolisis de ácido clorogénico	(Song & Baik, 2017).
LipM	Metagenóma de suelo agrícola expresado en <i>Escherichia coli</i>	Enterobacteriaceae	ρ -nitrofenilo de ácidos grasos de cadena corta	7.5	37	48	Nd	Nd	Transesterificación de compuestos contaminantes, producción de biodiesel o suplemento alimenticio de animales monogástricos	(Villamil <i>et al.</i> , 2016).
Esterasa de <i>S. cerevisiae</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Saccharomycetaceae	Formaldehído	7	50	40	0.29	12	Desintoxicación de formaldehído	(Degrassi <i>et al.</i> , 1999).

Nd= No determinado

3. PRODUCCIÓN INDUSTRIAL DE ENZIMAS

La producción de enzimas a nivel industrial comenzó a finales del siglo XIX en Dinamarca y Japón (Carrera, 2003). La producción enzimática a nivel industrial se realiza por medio de fermentaciones. En la fermentación sólida los sustratos deben ser porosos por ello se utiliza salvado o cascara de arroz, bagazos o paja de trigo, etc. La mayoría de las enzimas microbianas comerciales son producidas mediante medios sumergidos en los cuales se utilizan sustratos de apariencia líquida los cuales generalmente son de bajo costo, tales como hidrolizados de almidón, levadura enriquecida con calcio, fosforo, azufre, entre otros (Rabassa-Olazábal *et al.*, 2015). Generalmente las enzimas se obtienen de medios de cultivo de microorganismos principalmente de bacterias y hongos, por lo que es importante conocer las condiciones de crecimiento de estos organismos para optimizar la producción de las enzimas de interés (Spuler-Figueroa *et al.*, 2013). En la figura 2 se muestra el proceso de manufactura de la producción industrial de enzimas extracelulares. Se observa que el proceso de producción comienza con el desarrollo del inóculo del microorganismo de interés, bajo condiciones de regulación para la producción de enzimas. La regulación está directamente relacionada con las condiciones de fermentación, es decir, si las condiciones de fermentación se optimizan se genera una sobreproducción de enzimas. Una vez que se tiene el inóculo con la edad celular adecuada, éste es empleado para inocular un tanque y posteriormente el fermentador industrial para después ser decantado. Las células producidas se someten a pretratamiento y se separan por filtración o centrifugación dependiendo de la naturaleza de la enzima, que puede ser intracelular o extracelular. Las células se precipitan generalmente con sales y pasan a una etapa de enfriado, posteriormente, las células son concentradas en condiciones de enfriamiento, separando por filtración las células y el caldo fermentativo. En la etapa de purificación se separa la proteína enzimática específica, de la proteína y de los componentes no enzimáticos, tomando en consideración las propiedades de la enzima (Shuler *et al.*, 2017). La concentración consiste en la recuperación de las enzimas, lo cual se puede hacer por medio de evaporación al vacío con evaporadores rotatorios, de concha o tubo de caída, la temperatura es inferior a 40 °C y se deben controlar los niveles de espuma. Otra técnica es el secado por pulverización, el cual se usa más a nivel industrial. La liofilización se usa en menor medida, no obstante que asegura mayor pureza, pero es un proceso más costoso y lento. La ultrafiltración y/u osmosis inversa son técnicas desarrolladas para procesos industriales ya que se requiere de membranas, teniendo como desventaja la posible contaminación microbiana en las soluciones (Volesky *et al.*, 1984). La purificación de una solución enzimática puede ser por diferencia en propiedades iónicas como precipitación, electroforesis o intercambio de ion por cromatografía. Este proceso también se puede llevar a cabo por diferencias de absorbentes, es decir, por adsorción y cromatografía de afinidad o por diferencia de tamaño por medio de cromatografía de tamiz molecular, diálisis, ultrafiltración y ultracentrifugación (Volesky *et al.*, 1984). Finalmente, las enzimas se preparan para el almacenamiento. Cabe mencionar que la recuperación de las enzimas

intracelulares requieren de la ruptura celular, así como de la eliminación de residuos celulares y ácidos nucleicos (Shuler *et al.*, 2017).

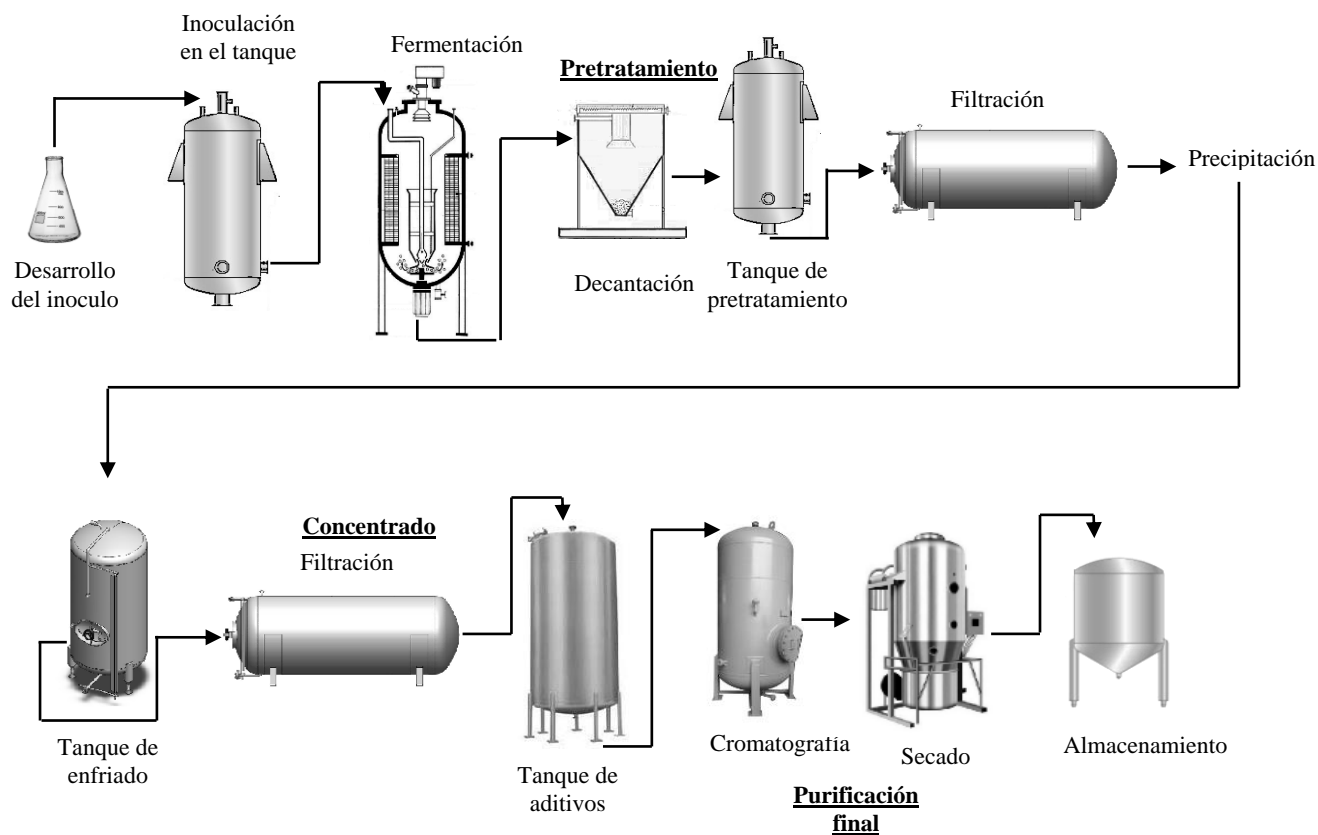


Fig. 2. Representación esquematiza del proceso de producción industrial de enzimas microbianas.

AGRADECIMIENTOS

Al laboratorio de biotecnología del Centro de Investigación en Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Tlaxcala.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

REFERENCIAS

- Carrera J.E. 2003. Producción y aplicación de enzimas industriales. *Revista Biotecnológica en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*. 1:15.
- Castiglia V. & Kuhar F. 2013. Reino fungi: morfologías y estructuras de los hongos. *Revista Boletín Biológica*. 7(28): 11-18.
- Choi Y. J. & Lee B.H. 2001. Culture conditions for the production of esterase from *Lactobacillus casei* CL96. *Bioprocess and Biosystems Engineering*. 24: 59-63.
- Degrassi G., Uotila L., Klima R. & Venturi V. 1999. Purification and properties of an esterase from yeast *Saccharomyces cerevisiae* and identification of the encoding gene. *Applied and Environmental Microbiology*. 65(8): 3470-3472.
- Esteban-Torres M., Barcenilla J.M., Mancheño J.M., De las Rivas B., & Muñoz R. 2014. Characterization of a versatile arylesterase from *Lactobacillus plantarum* active on wine esters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 62(22): 5118-5125.
- Fernández-De Castro F., Marques-Gerhardt E. C., Olivera M. & Parra-Barbosa I. 2017. Production, purification and characterization of novel serine- esterase from *Aspergillus westerdijkiae*. *Journal of Basic Microbiology*. 58(2): 131-143.
- Ferrer-Parra L., López-Nicolás D.I., Martínez-Castillo R., Montiel-Cina J.P., Morales-Hernández A.R., Ocaña-Romo E., González-Márquez A., Portillo-Ojeda M., Sánchez-Sánchez D.F. & Sánchez C. 2018. Partial characterization of esterases from *Fusarium culmorum* grown in media supplemented with di (2- ethyl hexyl phthalate) in solid-state and submerged fermentation. *Mexican Journal of Biotechnology*. 3(1): 82-94.
- Gandolfi R. F., Gaspari L., Franzetti & Molinari F. 2000. Hydrolytic and synthetic activities of esterases and lipases of non-starter bacteria isolated from cheese surface. *Annals Microbiology*. 50(2): 183-189.
- García-Barajas L.B. 2004. *Biología 2: Biodiversidad pluricelular*. Ed Pearson Educación. pp 73.
- Grajales-Muñiz O. 2005. *Apuntes de Bioquímica Vegetal. Bases para su aplicación fisiológica*. México. pp 48-49.
- Holland R., Liu S.-Q., Crow V.L., Delabre M.-L., Lubbers M., Bennett M. & Norris G. 2004. Esterases of lactic acid bacteria and cheese flavor: milk fat hydrolysis, alcoholysis and esterification. *International Dairy Journal*. 15(6-9): 711-718.
- Huynh H., Ishii N., Matsuo I. & Arioka M. 2018. A novel glucuronoyl esterase from *Aspergillus fumigatus* the role of conserved Lys residue in the preference for 4-O-methyl glucuronoyl esters. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 102(5): 2191-2201.
- Huynh, H. & Arioka, M. 2016. Functional expression and characterization of a glucuronoyl esterase from the fungus *Neurospora crassa*: Identification of novel consensus sequences

containing the catalytic triad. The Journal of General and Applied Microbiology. 62(5): 217-224.

Kulkarni S., Patil S. & Satpute S. 2013. Microbial Esterases: An overview. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. 2(7): 135-146.

Linke D., Matthes R., Nimtz M., Zorn H., Bunzel M. & Berger RG. 2012. An esterase from the basidiomycete *Pleurotus sapidus* hydrolyzes feruloylated saccharides. Applied Microbiology Biotechnology 97(16): 7241-7251.

Liu Y., Xu, H., Yan Q., Yang S., Duan X., & Jiang Z. 2013. Biochemical characterization of a first fungal esterase from *Rhizomucor miehei* showing high efficiency of ester synthesis. Plos one. 8(10): 1-10

Marhur G. & Prasad R. 2012. Degradation of Polyurethane by *Aspergillus flavus* (ITCC 6051) Isolated from soil. Applied Biochemistry and Biotechnology. 167(6): 1595-1602.

Martínez-Matínez M., Coscolín C., Santiago G., Chow J., Stogios P.J., Bargiela R., Gertler C., Navarro-Fernández J., Bollinger A., Thies S., Méndez-García C., Popovic A., Brown G., Chernikova T.N., García-Moyano A., Bjerga G.E.K., Pérez-García P., Hai T., Del-Pozo M.V., Stokke R., Steen I.H., Cui H., Xu X., Nocek B.P., Alcaide M., Distaso M., Mesa V., Peláez A.I., Sánchez J., Buchholz P.C.F., Pleiss J., Fernández-Guerra A., Glöckner F.O., Golyshina V.O., Yakimov M.M., Savchenko A., Jaeger K.E., Yakunin A.F., Streit W.R., Golyshin P. N., Guallar V. & Ferrer M. 2018. Determinants and prediction of esterase substrate promiscuity patterns. ACS Chemical Biology. 13(1): 225-234.

Montes-De Oca R., Salem A.Z.M., Kholif A.E., Monroy H., Pérez L.S., Zamora J.L. & Gutiérrez A. 2016. Yeast: description and structure. India. pp 4-13.

Panda T. & Gowrishankar B.S. 2005. Production and applications of esterases. Applied Microbiology Biotechnology. 67: 160-169.

Prats G. 2006. Microbiología y parasitología. Médica Panamericana. Barcelona. pp 94.

Rabassa-Olazábal G., Pérez-Sánchez A., González-Suárez E., Pérez-Sánchez E. J., & Álvarez-Laugar E. 2015. La microbiología industrial como herramienta efectiva en la obtención de productos de alta demanda. Vitual Pro. 156: 1-31.

Robles-Hernández L., Gonzalez-Franco A.C., Soto-Parra J.M. & Montes-Dominguez F. 2008. Review of agricultural and medicinal applications of basidiomycete mushrooms. Tecnociencia Chihuahua. 2(2): 95-107.

Shuler M.L., Kargi F. & DeLisa M. 2017. Bioprocess engineering: basic concepts, 3rd edition. Prentice Hall. EUA. pp 98.

Song Y.R. & Baik S.H. 2017. Molecular purification and characterization of a novel thermostable cinnamoyl esterase from *Lactobacillus helveticus* KCCM 11223. Preparative Biochemistry & Biotechnology. 47(5):1-17.

- Spuler-Figueroa M.J., Espinoza- Ñanculef F., Shere De Vidts C. 2013. Enzimas de interés para la industria de alimentos y química a partir de desechos de la industria acuícola. Del III simposio de gestión de residuos agrícolas y agroindustriales. Sao Pedro, Brasil.
- Steiner K. & Schwab H. 2012. Recent advances in rational approaches for enzyme engineering. *Computational and Structural Biotechnology Journal*. 2(3): 1-12.
- Sugihara A., Shimada Y., Nomura A., Terai T., Imayasu M., Nagai Y., Nagao T., Watanabe Y. & Tominaga Y. 2002. Purification and characterization of a novel cholesterol esterase from *Pseudomonas aeruginosa*, with its application to cleaning lipid-stained contact lenses. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 66(11): 2347-2355.
- Sumby K.M., Matthews A.H., Grbin P.R. & Jiranek V. 2009. Cloning and characterization of an intracellular esterase from the wine-associated lactic acid bacterium *Oenococcus oeni*. *Applied and Environmental Microbiology*. 75(21): 6729-6735.
- Taboada N.V., López-Alzogaray M. S., Abeijón-Mukdsi M.C. & Medina R.B. 2014. Esterase activities and biochemical properties of lactic acid bacteria isolated from Goat's milk cheese in Argentina. *Journal of Agricultural Science and Tecnology*. 4: 752-760.
- Teijón-Rivera J., Blanco- Gaitán D., Agrasal- Aragón C., Olmo- López R. 2009. *Bioquímica estructural conceptos y tests*. Madrid: Ed. Tébar. pp 267.
- Verma H., Lokesh K.N. & Singh-Jadaun J. 2018. Pectinase: a useful tool in fruit processing industries. *Nutrition & Food Science International Journal*. 5(5): 1-4.
- Villamil C., Del Portillo P. & Alvaro M. 2016. Clonación, expresión y caracterización de una nueva esterasa derivada de metagenomas de suelos agrícolas colombianos. *Revista Colombiana de Biotecnología*. 18(2): 48-55.
- Volesky B., Luong J.H.T. & Aunstrup K. 1984. Microbial enzymes: production, purification, and isolation. *Critical Reviews in Biotechnology*. 2(2): 119-146.
- Yan, S. & Wu, G. 2013. Predictions of enzymatic parameters: a Mini-Review with focus on enzymes for biofuel. *Applied Biochemistry Biotechnology*. 171(3): 599-615.
- Zhang X.Y., Fan X., Qui Y.J., Li C.Y., Xing S., Zheng Y.T & Xu J.H. 2014. Newly identified thermostable esterase from *Sulfobacillus acidophilus*: properties and performance in phthalate ester degradation. *Applied and Environmental Microbiology*. 80(22): 6870-6878.