



OBTENCION DE UNA LIPASA DE ASPERGILLUS NIGER POR FERMENTACION EN ESTADO SOLIDO DE SALVADO DE TRIGO.

Yamilé Gutiérrez¹, Julio Dustet, José L. Martínez². 1. Facultad de Ingeniería Química, Cujae. Calle 114 11901 e/ 119 y 127. Ciudad de La Habana. Cuba. 2. Facultad de Química. Universidad Autónoma de Coahuila. E mail: jcdm@quimica.cujae.edu.cu

Palabras clave: lipasa, fermentación en estado sólido, *Aspergillus niger*.

Introducción. Las lipasas son enzimas capaces de catalizar reacciones tanto de hidrólisis como de síntesis de ésteres formados de glicerol y largas cadenas de ácidos grasos. Estas enzimas se obtienen comúnmente por fermentación sumergida, aunque se está prestando atención a la fermentación en estado sólido (FES) debido a las ventajas que presenta esta última (1).

El objetivo del trabajo es proponer las variables de operación para la etapa de fermentación en estado sólido para producir una lipasa de la cepa *Aspergillus niger* J-1.

Metodología. El medio de cultivo empleado fue el optimizado por (1). El estudio de la influencia de la temperatura se llevó a cabo a 25, 30, 35 y 40°C con 65% de humedad. El estudio de la influencia de la humedad se llevó a cabo a 55, 60, 65 y 70% con la mejor temperatura obtenida. El estudio de la cinética de expresión de la enzima se llevó a cabo con aireación. En todos los casos se tomaron muestras cada 24 horas durante seis días. Las variables respuestas de los experimentos fueron la actividad enzimática y el pH. La cinética de crecimiento se determinó a partir de la curva de evolución de CO₂. La actividad enzimática se determinó según se describe en (2) y el resto de las condiciones experimentales también se detallan en (2).

Resultados y discusión. La actividad enzimática alcanza un máximo de 8,46UI/g de salvado de trigo a 30°C en el quinto día y en el sistema sin aireación. Se obtuvo también valores ligeramente menores a 35°C y 40°C, lo cual permite trabajar en el intervalo 30-40 °C sin que se produzcan grandes cambios en los valores de la actividad. En función de la humedad los valores más altos de actividad se alcanzaron con un 65% también en el quinto día de fermentación y los más bajos con 55 y 70%. En relación a la cinética de crecimiento (figura 1) se observan tres fases. Hasta alrededor de las 19 o 22 horas se observa un aumento de la velocidad de formación de CO₂ que responde a una función exponencial y que evidencia la etapa de crecimiento del microorganismo a expensas de la glucosa presente en el medio de cultivo y del almidón contenido en el salvado de trigo. Con la información experimental y la ecuación a continuación se calculó la curva de crecimiento de la biomasa obteniéndose una velocidad específica máxima de crecimiento de 0,225 h⁻¹.

$$X_{t=t_n} = Y_{x/co_2} * \frac{\Delta t}{2} * \left[(R_{co_2})_{t=t_n} + (R_{co_2})_{t=0} + 2 * \sum_{t=1}^{t_n} R_{co_2} \right] + X_0$$

En la segunda fase entre 19 o 22 horas y las 40 o 43 horas se observa una tendencia del CO₂ a permanecer

constante; esto supone el consumo del aceite de oliva que es el inductor de la lipasa por ser este el periodo de tiempo en que se expresa la enzima. Pasada las 43 horas se observa la disminución de la velocidad debido al agotamiento de los nutrientes y al comienzo de la esporulación. Resultados similares se han obtenido en estudios que muestran un descenso en la velocidad de formación de CO₂ después del comienzo de la esporulación (3).

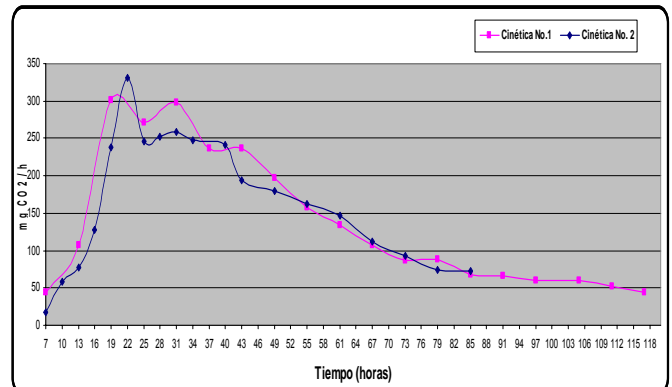


Fig. 1. Velocidad de formación de CO₂ producido en la FES para la obtención de lipasa de *A. niger* J-1 a 30°C y H=65%, 2 L/kg/ minuto de flujo de aire.

Conclusiones. Las mejores condiciones para obtener la lipasa de *A. niger* J-1 son un intervalo de temperatura entre 30 y 35 °C, una humedad inicial del medio igual a 65% y un flujo de aire de 2 L/kg de salvado de trigo/minuto y el medio de cultivo optimizado por (1). En estas condiciones se puede alcanzar en 3 días de fermentación una actividad enzimática de 8,5 UI/g de salvado de trigo igual a la alcanzada en cinco días en un proceso sin aireación.

Agradecimiento. Agradecemos la colaboración del especialista de la Universidad Autónoma de Coahuila, México.

Bibliografía.

1. Falony G., Coca J., Dustet J.C. (2006). Production of extracellular lipase from *Aspergillus niger* by solid-state fermentation. *Food Technol. Biotechnol.* 44(2) 235-240.
2. Gutiérrez Y., Dustet J.C. (2008). Transformación biológica de un residual de salvado de trigo para producir la enzima Lipasa. *SUIMA. 14 Convención Científica de Ingeniería y Arquitectura.* Cujae. Palacio de Convenciones. Ciudad de La Habana, 1-5 de diciembre.
3. Pandey A., Soccol CR, (2001). *Solid-state fermentation in biotechnology.* New Delhi. Asiatech Inc: 23.7.