

ESTUDIO DEL PROCESO FERMENTATIVO PARA LA OBTENCIÓN DE LIPASA EXTRACELULAR A PARTIR DE *ASPERGILLUS NIGER*.

Janny Coca Armas, Odette Hernández Jústiz, Julio C. Dustet Mendoza, José L. Martínez Hernández.
Calle 127, s/n, Marianao, C. Habana, Cuba. Telf: 2607750, Fax: 2672964, Janny@quimica.ispjae.edu.cu

Palabras claves: Obtención, Producción, Lipasas, Aspergillus niger.

Introducción. Las lipasas son enzimas hidrolíticas que se encuentran presentes en los procesos metabólicos degradativos de algunas plantas y animales. Ellas son producidas por un gran número de microorganismos (1) a partir de los cuales son obtenidos usualmente para fines comerciales. El hongo *A.niger* ha sido reconocido como buen productor de lipasas. Sin embargo, en la literatura científica se encuentra muy poca información sobre la obtención de estas enzimas a partir de hongos a escala productiva.

Por esa razón en el presente trabajo se ha llevado a cabo un estudio sobre la producción de lipasas por una cepa de *A.niger* a escala de 2,5 litros, con el objetivo de sentar pautas para el desarrollo de este proceso fermentativo a escala productiva.

Metodología. La cepa de *A.niger* J-1 fue desarrollada en un medio mineral con la siguiente composición (g/L): NaH_2PO_4 12, KH_2PO_4 2, $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ 0.3, CaCl_2 0.25 y sulfato de amonio al 1 % y aceite de oliva al 2 % respectivamente como fuentes de nitrógeno y carbono. El efecto de otras fuentes de carbono y diversas concentraciones sobre la expresión de la actividad lipolítica fue estudiado a nivel de zaranda, mientras que, el efecto del control del pH en el medio fue estudiado a escala de 2,5 litros de fermentación. A esta escala se estudió además el efecto de la velocidad de agitación y de la aireación mediante un diseño factorial 3x2.

Resultados y discusión. Los resultados derivados del estudio de cultivos de *A.niger* desarrollado en presencia de varios sustratos combinados se exponen a continuación.

Cuadro 1 Estudio comparativo de cultivos de A.niger desarrollado bajo diversas condiciones.

Combinación	P.seco (g/L)	Actividad (U/mL)	Productividad (U/mL/d)
A. oliva	17,20	0,52	0,104
A. oliva -Glucosa	23,22	0,99	0,250
A. oliva - Sacarosa	25,00	1,47	0,368

Como se puede apreciar el empleo de sacarosa en lugar de glucosa favoreció el desarrollo del cultivo ya que se obtuvo un crecimiento de 25 g/L. Igual sucedió con la expresión de actividad lipolítica, pues aumentó 1,5 veces respecto a cuando se utilizó glucosa en el medio y casi 3 veces respecto al medio donde se utilizó aceite de oliva al 2 %. Por otra parte, se obtuvo la máxima expresión al cuarto día de fermentación.

Con relación al estudio del efecto del pH se comprobó que la producción de lipasas se afectó significativamente cuando el mismo fue controlado en 6. Sin embargo en fermentaciones donde el pH del medio no fue controlado se obtuvieron 1,46 U/mL y 22,8 g/L respectivamente. Similares resultados se reportaron para cultivos de *A.oryzae* que desarrollados con control de pH, tanto la actividad de la enzima como la velocidad de crecimiento del microorganismo disminuyeron considerablemente. (2)

Respecto al estudio del efecto de la agitación y la aireación sobre la producción de la enzima de interés se obtuvo el modelo siguiente:

$$Act = 0,82 + 0,64 X_2 + 0,27 X_1 + X_2 + 0,25 X_1^2 + 0,38 X_1^2 X_2$$

Este modelo refleja que tanto la velocidad de agitación, la aireación, y la interacción entre estas dos variables influyen significativamente en la actividad enzimática del cultivo (variable respuesta) en el intervalo analizado. Se comprobó que el modelo resulta adecuado según los criterios estadísticos, debido a que se obtuvo un coeficiente de correlación de 0,9996 y el ajustado para el modelo de acuerdo a los grados de libertad es 0,9990 y los residuos se encuentran aleatoriamente distribuidos.

Cuando el modelo fue descodificado y maximizada la función, se obtuvo que en 1 vvm y 418 rpm aproximadamente se encontraba el máximo local obtenido en la superficie de respuesta.

Conclusiones y perspectivas. De acuerdo con los resultados presentados se obtuvo que la fuente de carbono y energía más apropiada para la producción de lipasas por la cepa de *A.niger* consiste en una combinación de sacarosa y aceite de oliva al 2 % cada uno de ellos.

Se demostró mediante la evaluación de las fermentaciones a escala de banco con *A.niger*, que la aireación, la velocidad de agitación y la interacción entre estas dos variables influyen en la expresión de la enzima de interés. La mayor expresión de actividad lipolítica se obtuvo en condiciones de 450 rpm y 1 vvm en cultivo de 2,5 Litros.

Referencias.

- Schmid RD, Verger R. (1998) Lipases: Interfacial enzymes with attractive applications. *Angew.Chem.Int.Ed.* 37: 1608-1633.

2. Ohnishi K., Yoshida Y., Sekiguchi J. (1994) Lipase production of *Aspergillus oryzae*. *J. Ferment. Bioeng.* 77, 490-495.