

## Optimización de las principales variables que afectan el crecimiento y la utilización de lactosa por *Kluyveromyces marxianus*

Ceruti, R.J.; Eluk, D.; Nagel, O.G.; Molina, M.P.; Althaus, R.L.

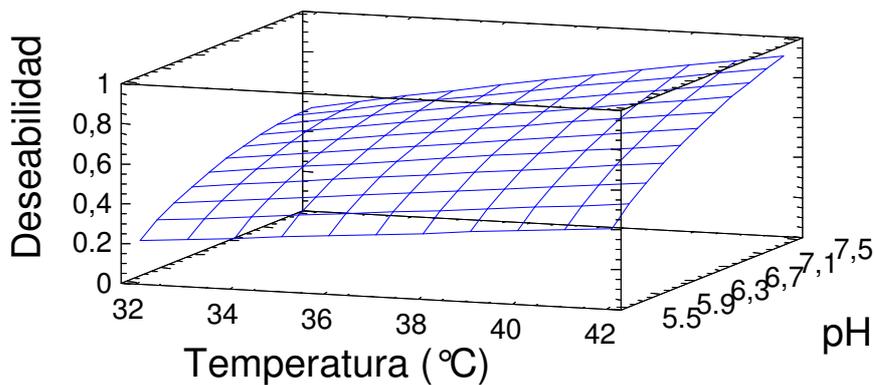
Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral, R.P.L. Kreder 2805 - (3080).

Esperanza, Santa Fe, Argentina. [robertoju@hotmai.com](mailto:robertoju@hotmai.com)

PICT-2012-0455: “Diseño de un sistema sustentable para el tratamiento de leche contaminada con antibióticos”

En nuestro país se generan grandes volúmenes de lactosuero como consecuencia de la producción de quesos. En el pasado, el lactosuero era considerado un producto de desecho, pero las preocupaciones por reducir el impacto ambiental de su descarte como residuo y el interés económico por su aprovechamiento han revertido esta situación. Aunque se han logrado avances significativos en la búsqueda de alternativas para su uso, una gran parte continúa sin ser industrializado. La disponibilidad de lactosa y la presencia de otros nutrientes esenciales para el crecimiento de microorganismos hacen del lactosuero un sustrato en potencia para generar diferentes bioproductos de alto valor agregado, tales como biomasa microbiana, ácido cítrico, láctico y propiónico, enzimas, oligosacáridos y etanol<sup>1</sup>. Por otra parte, la capacidad de asimilar lactosa por parte de *Kluyveromyces marxianus* resulta beneficiosa para el tratamiento del lactosuero. Entre las aplicaciones industriales de esta levadura se destacan la producción de etanol y la producción de biomasa<sup>2</sup>. En el presente trabajo se evaluó la influencia de diversas variables (pH, temperatura, tiempo de fermentación y fuente nitrogenada) sobre el crecimiento y el consumo de lactosa por parte de *K. marxianus*. En una primera etapa, se evaluó el efecto del tipo de fuente nitrogenada (triptona de soja, peptona de caseína y peptona de carne) sobre el crecimiento celular de *K. marxianus* y el consumo de lactosa, y se definió cuál de ellas era la más apropiada. Se utilizó un medio de cultivo compuesto por lactosa (4 g/100 ml), extracto de levadura (0,5 g/100 ml) y fuente nitrogenada (2,5 g/100 ml). Se tomaron muestras de los medios de cultivo a las 0, 2, 4, 6, 8, 10 y 12 horas. Las concentraciones de biomasa (g/L) se determinaron haciendo uso de lecturas turbidimétricas a 620 nm. El consumo de lactosa se cuantificó mediante una técnica enzimática colorimétrica que utiliza  $\beta$ -galactosidasa y glucosa oxidasa. Haciendo uso de la metodología ya descrita y un medio de cultivo de igual composición que en la etapa anterior, se realizó en una segunda etapa un diseño experimental completo (3<sup>3</sup>) de los factores de diseño temperatura (32, 37 y 42°C) y pH (5,5; 6,5 y 7,5) y tiempo de cultivo (8, 10 y 12 horas) a fin de evaluar los efectos sobre el crecimiento celular y el consumo de lactosa. Se construyeron superficies de respuesta para crecimiento celular y lactosa residual. Posteriormente se aplicó la función deseabilidad contenida en el paquete estadístico Statgraphics Centurion XVI (Statgraphics, 2009) para la optimización de los factores de diseño que permitan maximizar el crecimiento celular y minimizar la lactosa residual. Para las diferentes fuentes nitrogenadas utilizadas en este trabajo, no se observó efecto significativo sobre el crecimiento celular ( $p > 0,05$ ), mientras que el mayor consumo de lactosa se obtiene cuando se adiciona peptona de caseína o triptona de soja en comparación con la peptona de carne. De esta manera, se seleccionó peptona de caseína como fuente nitrogenada para los ensayos posteriores de optimización. En éstos, se observó en general que los mayores valores de crecimiento celular y consumo de lactosa se obtienen a mayor tiempo de cultivo transcurrido ( $p < 0,05$ ). Los resultados indican también que un valor más bajo de pH (5,5) provocó una disminución significativa ( $p < 0,05$ ) del crecimiento de la levadura y el consumo de lactosa en comparación con valores cercanos a la neutralidad (pH 6,5 y 7,5). Con respecto a la temperatura, el mayor crecimiento celular y consumo de lactosa ( $p < 0,05$ ) se obtuvo a valores más elevados de temperatura (37°C y 42°C) en comparación con la temperatura más baja (32°C). De acuerdo al análisis de las superficies de respuesta, pudo observarse que las condiciones óptimas para la producción de biomasa y el consumo de lactosa son tiempo de cultivo 12 horas, pH 7,5 y temperatura 42°C. En estas condiciones, se observó a las 12 horas una producción de biomasa de 1,6 g/L y un valor de lactosa residual cercano al 40 %. Los resultados

obtenidos establecen un punto de partida (pH=7,5, T=42°C, peptona de caseína o triptona de soja como fuente nitrogenada) para una futura optimización de aireación y velocidad de agitación en un biorreactor, a fin de maximizar la producción de biomasa y el consumo de lactosa por *Kluyveromyces marxianus*, y lograr un tratamiento efectivo del lactosuero previo a su descarte.



**Figura 1:** Función deseabilidad en términos de las variables independientes temperatura y pH a 12 horas de fermentación.

## Bibliografía

1. **Panesar, P.S.** (2008). Production of  $\beta$ -D-Galactosidase from Whey Using *Kluyveromyces marxianus*. *Research Journal of Microbiology*, 3(1), 24-29.
2. **Fonseca, G.G.; Heinzle, E.; Wittmann, C.; Gombert, A.K.** (2008). The yeast *Kluyveromyces marxianus* and its biotechnological potential. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 79(3), 339-354.