

Growth Kinetics of *Aspergillus niger* in *Solanum tuberosum*

Cinética de crecimiento del *Aspergillus niger* en *Solanum tuberosum*

Danae Fernández^{1*}; Denise Apunte¹; Rodney Hechavarría²

ABSTRACT

In this research, the growth kinetics of the fungus *Aspergillus niger* in *Solanum tuberosum* were studied. Microbial fermentation was carried out in a medium formulated with organic residues of *Solanum tuberosum* with a humidity of 61%. Samples were taken every other day to estimate cell growth by the dry weight method. The kinetic parameters of the microorganism were determined obtaining a specific growth rate of 0.016 h^{-1} using a linear model. The Gompertz, Logistic, Brody and Bertalanffy models were evaluated, of which Bertalanffy and Brody were the best fit for the data, with a coefficient of determination (R^2) of 0.994 in both models.

Keywords: 1. *Aspergillus niger*, 2. microbial fermentation, 3. *Solanum tuberosum*, 4. kinetic models.

RESUMEN

En esta investigación se estudió la cinética de crecimiento del hongo *Aspergillus niger* en *Solanum tuberosum*. Se realizó la fermentación microbiana en un medio formulado con residuos orgánicos de *Solanum tuberosum* con una humedad del 61%. Se tomaron muestras cada dos días para estimar el crecimiento celular por el método del peso seco. Los parámetros cinéticos del microorganismo fueron determinados obteniendo una tasa específica de crecimiento de $0,016 \text{ h}^{-1}$ utilizando un modelo lineal. Se evaluaron los modelos de Gompertz, Logístico, Brody y Bertalanffy, de los cuales Bertalanffy y Brody fueron los que mejor se ajustaron a los datos, con un coeficiente de determinación (R^2) de 0,994 en ambos modelos.

Palabras clave: 1. *Aspergillus niger*, 2. fermentación microbiana, 3. *Solanum tuberosum*, 4. modelos cinéticos.

Recibido 05 de octubre de 2022 Aceptado 23 de diciembre de 2022

¹Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología, Universidad Técnica de Ambato, 180103, Ambato, Ecuador

²Institute for Applied Sustainability Research – iiasur, Facultad de Ciencias Básicas, Universidad Técnica de Manabí, 130101, Manabí, Ecuador, rodney.hechavarría@utm.edu.ec

*Autor para correspondencia: da.fernandez@uta.edu.ec

1. INTRODUCCIÓN

En el mundo se producen cerca de 1600 millones de toneladas por año de residuos sólidos, los cuales generan graves problemas en relación con el medio ambiente y el manejo económico. Son muy pocas las industrias que implementan tecnologías para la reutilización de los residuos generados del procesamiento de frutas y vegetales, ya que los consideran de un bajo valor comercial lo que repercute en que sean eliminados en las aguas industriales, o encaminados hacia la alimentación animal sin pretratamiento (Torres, 2013).

La papa (*Solanum tuberosum*) se consume de forma frecuente en los hogares ecuatorianos, especialmente la variedad Superchola, sus residuos contienen proteínas, carbohidratos, potasio y vitamina C, lo que favorece a los procesos fermentativos al adicionar microorganismos (Waglay et al., 2019).

Aspergillus niger es un hongo que se encuentra alrededor del mundo, este microorganismo es utilizado en la biodegradación de desechos industriales y para la elaboración de enzimas necesarias en la fabricación de productos comestibles (Cueva, 2017).

En la fermentación, los hongos son los microorganismos de elección, debido a que de forma natural crecen sobre materiales sólidos, poseen sistemas enzimáticos completos y además presentan alta capacidad de adherencia y penetración en las partículas del sustrato, por lo que la estructura micelar de los hongos filamentosos les confiere ventaja frente a otros microorganismos (Nout, 2014).

La biotecnología microbiana permite la creación o modificación de productos o procesos, con el fin de obtener productos de interés para el ser humano (Arguero, 2014).

Actualmente, es posible representar los procesos microbiológicos mediante modelos cinéticos, los cuales pueden describir el comportamiento de la producción de biomasa, metabolito o consumo de sustrato. Los parámetros cinéticos de crecimiento microbiano son las herramientas básicas para escalar los procesos biotecnológicos evaluados en el laboratorio, debido a que permiten predecir el desarrollo de la fermentación y evaluar los rendimientos, así como las productividades en los procesos (Zapata et al., 2005).

El estudio de los bioprocesos ha permitido optimizar los requerimientos energéticos y los tiempos de producción, para poder obtener el metabolito de interés a partir de diversos tipos de sustratos, tanto simples como complejos con costos de producción bajos (Calderón, 2017).

En esta investigación se estudió la cinética de crecimiento del *Aspergillus niger* en *Solanum tuberosum*, con el objetivo de obtener un modelo cinético en un medio formulado con una humedad del 61% (Apunte et al., 2019).

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Proceso de fermentación

En el proceso fermentativo se utilizaron las condiciones experimentales y la formulación del medio obtenidas a partir de las investigaciones de Apunte et al. (2019), el medio estuvo compuesto por harina de cáscara de papas a una humedad del 61%. El microorganismo *Aspergillus niger* aislado de sustrato orgánico de limón, caracterizado macroscópica y microscópica, se inoculó a una concentración de 6×10^4 células/ml en un volumen de 300 ml de medio. Se incubó a una temperatura de 30 °C utilizando un agitador incubador orbital (Ivymen sistema Shaker) a una velocidad de agitación de 130 rpm durante 12 días. Se tomaron muestras por triplicado cada dos días para estimar la concentración de biomasa mediante peso seco celular utilizando una centrifuga (Rotina 380- Hettich Zentrifugen), a la velocidad de centrifugación de 4000 rpm durante 10 minutos. El sobrenadante obtenido se desechó, el pellet se secó utilizando la estufa (MEMMERT NUT-004X) por 24 h. Transcurrido el tiempo se pesó y se calculó la concentración celular a partir de la división entre el peso del sedimento y el volumen de cultivo utilizado. Se realizó una curva de crecimiento celular a partir de los valores obtenidos de concentración de biomasa en el tiempo de cultivo (Prescott et al., 2002).

2.2 Determinación de los parámetros cinéticos en el proceso fermentativo

El valor de la tasa específica de crecimiento (μ) se determinó a partir de la pendiente de la curva logarítmica de la concentración de biomasa contra el tiempo en la región de crecimiento exponencial. Se determinó el tiempo que tarda en duplicarse la población o tiempo de generación (g) a partir de la división entre 0,693 y la tasa de crecimiento (Prescott et al., 2002) (Madigan y Martinko, 2010).

2.2.1 Modelos matemáticos usados para el estudio cinético

Se comparó la aplicación de diferentes modelos sigmoidales a los datos experimentales

obtenidos del crecimiento del *Aspergillus niger* en los tiempos: 0, 2, 4, 6, 8, 10 y 12 días del proceso fermentativo. Se realizó un análisis de regresión con los modelos: Logístico, Von Bertalanffy, Brody y Gompertz (Tabla 1) (Castro et al., 2008).

Tabla 1. Modelos predictivos utilizados.

Modelo	Expresión
Logístico	$N(t) = \frac{A}{1 + Be^{-\mu t}}$
Von Bertalanffy	$N(t) = A (1 - e^{-\mu[t-t_0]})$
Brody	$N(t) = A (1 - Be^{-\mu t})$
Gompertz	$N(t) = Ae^{-Be^{-\mu t}}$

N (t): concentración celular en función del tiempo (g/ml)

t: tiempo de incubación (h).

A: concentración celular inicial (g/ml)

B: diferencia entre la concentración celular inicial y final

μ : tasa de crecimiento (h^{-1})

Se procedió a evaluar los modelos cinéticos para identificar cual es el que mejor se ajusta a los datos experimentales y con cual se obtiene el mejor valor del coeficiente de determinación (R^2).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Determinación de los parámetros cinéticos en el modelo lineal

En la Figura 1 se presenta la curva de crecimiento del *Aspergillus niger*, el cultivo comienza con la fase de crecimiento exponencial cercano a la inoculación hasta los 2 días, en esta fase la síntesis de todos los constituyentes celulares se incrementa a una rapidez constante, de tal forma que la población de células se duplica y la velocidad de crecimiento es máxima (Méndez, 2013).

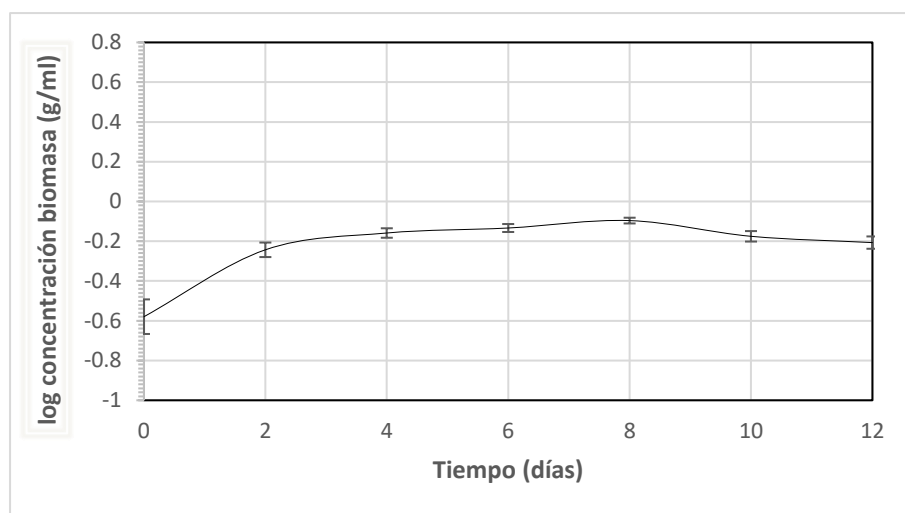


Figura 1. Curva de crecimiento del *Aspergillus niger*.

A partir de los 2 días se observó la fase estacionaria, en esta fase, el crecimiento puede estar ocurriendo, pero está equilibrado por la rapidez de muerte o lisis celular, la velocidad específica de crecimiento es cero, esto no quiere decir que las funciones biosintéticas hayan finalizado, sino que la energía proporcionada por el sustrato se destina hacia el mantenimiento celular (Ferrer et al., 2019).

A los 10 días comenzó a observarse un ligero descenso de la concentración celular, es decir el cultivo entró en la fase de muerte en donde el número de células que mueren aumentan. La pendiente de esta fase puede ser más o menos pronunciada de acuerdo con el tipo de microorganismo, pueden presentarse pendientes menos bruscas cuando el microorganismo presenta alguna forma de resistencia en este caso las esporas (Pérez et al., 2016). El método utilizado para la estimación de la concentración celular en este trabajo determina el peso seco, el mismo es directo y determina la masa celular, aunque no es muy sensible ya que no diferencia entre las células vivas y muertas, sin embargo, es de utilidad en el crecimiento de hongos (Prescott et al., 2002)

Méndez, (2013) observó que *Aspergillus niger* alcanzó el máximo valor de crecimiento a las 48 horas y el decrecimiento de la biomasa a las 192 horas. Al comparar estos resultados bibliográficos con los obtenidos en esta investigación se pudo observar que el tiempo de la fase de crecimiento exponencial es el mismo, mientras que el de la fase de muerte es diferente. Las poblaciones microbianas pocas veces conservan un crecimiento exponencial prolongado, esto es debido a que casi siempre el crecimiento se encuentra limitado por el agotamiento de nutrientes o por la acumulación de productos del metabolismo microbiano y como consecuencia, el crecimiento disminuye, hasta detenerse en un determinado tiempo.

En la Tabla 2 se muestran los resultados obtenidos de los parámetros cinéticos del crecimiento de *Aspergillus niger*, obteniendo un valor de $u = 0,016 \text{ h}^{-1}$ y un tiempo de duplicación de 43,08 h.

Tabla 2. Parámetros cinéticos del microorganismo en el medio optimizado.

Parámetros cinéticos	Medio Optimizado
u (horas^{-1})	0,016
t_d (horas)	43,08

Según de Castro et al., (2011), la velocidad específica para hongos como *Aspergillus niger* se encuentra entre $0,0101 \text{ h}^{-1}$ y $0,1213 \text{ h}^{-1}$, por lo que el valor obtenido en el presente trabajo se encuentra dentro de este rango.

Cueva, (2017) realizó la producción de α -amilasas a partir de la fermentación de *Aspergillus niger* para su empleo en procesos de panificación utilizando como sustrato almidón de trigo, optimizó las condiciones de cultivo obteniendo la mayor producción de biomasa a una velocidad específica de crecimiento de $0,011 \text{ h}^{-1}$ y un tiempo de duplicación de 61,23 h, siendo muy similares a los obtenidos en esta investigación.

3.2 Modelos matemáticos usados para el estudio cinético

Los datos generados durante el crecimiento de organismos vivos requieren del uso de modelos matemáticos adecuados que permiten representarlos con pocos parámetros, de tal modo que se obtenga un buen ajuste y que los parámetros muestren las características del crecimiento. Los biólogos estudian los modelos de crecimiento de Gompertz, Richards, Logístico, Brody, Bertalanffy y Monod porque tienen un sentido biológico; estos son modelos que se obtienen a partir de consideraciones sobre la forma del crecimiento (Villegas et al., 2019).

A partir de los datos experimentales recolectados se aplicaron las ecuaciones de los modelos cinéticos (Gompertz, Logístico, Brody y Bertalanffy), obteniendo que los modelos de Von Bertalanffy y Brody fueron los que mejor se ajustaron a los datos de esta investigación, con un coeficiente de determinación (R^2) de 0,994 en ambos modelos (Tabla 3 y 4) y con valores de $0,416 \text{ h}^{-1}$ en la tasa específica de crecimiento. Estos resultados fueron obtenidos empleando los softwares de cálculo Wolfram Mathematica 11.1 y OriginLab v8.5.

Tabla 3. Modelo de Von Bertalanffy.

No.	Valor A	Error A	Valor μ	Error μ	Valor t_0	Error t_0	χ^2 Reducido	r^2 ajustado	Suma cuadrática de residuos
9	0,796	0,013	0,416	0,033	-0,979	0,107	$1,89 \times 10^{-4}$	0,994	0,00114

Tabla 4. Modelo de Brody.

No.	Valor A	Error A	Valor B	Error B	Valor μ	Error μ	χ^2 Reducido	r^2 ajustado	Suma cuadrática de residuos
9	0,796	0,013	0,666	0,016	0,416	0,033	$1,89 \times 10^{-4}$	0,994	0,00114

Gómez et al., (2017) modelaron la cinética de crecimiento de biomasa fúngica utilizando tres modelos: Gompertz, Von Bertalanffy y Logístico para los valores obtenidos por espectrofotometría, resultando que el modelo de Von Bertalanffy fue el que se ajustó de manera sobresaliente a los valores experimentales similar al obtenido en este estudio.

Se compararon varios modelos sigmoidales para el crecimiento de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* en leche estéril de búfala, resultando que con el modelo Logístico se obtuvo una tasa de crecimiento ($0,6567 \text{ h}^{-1}$) similar al determinado en este estudio ($0,768 \text{ h}^{-1}$) (Tabla 5) (Castro et al., 2008). Además, el modelo logístico presentó el mejor ajuste en el crecimiento de *S. boulardii* en leche (Chambi y Torres, 2021)

Tabla 5. Modelo logístico.

No.	Valor A	Error A	Valor B	Error B	Valor μ	Error μ	χ^2 Reducido	r^2 ajustado	Suma cuadrática de residuos
9	0,765	0,014	1,698	0,18	0,768	0,086	$5,548 \times 10^{-4}$	0,982	0,00333

En esta investigación la cinética de crecimiento no se ajustó a los modelos de Gompertz y Logístico, sin embargo, estos fueron utilizados para estudiar la cinética de crecimiento de *Synechococcus* sp. PCC 7002 en medio líquido por Colorado, (2018). Además, el modelo de Gompertz fue utilizado por Ferrer et al., (2019) para ajustar el crecimiento de *Pleurotus ostreatus* en fermentación sumergida para utilizar en la extracción de fenólicos, con la aplicación de este modelo se obtuvo una tasa específica de crecimiento de $0,588 \text{ h}^{-1}$ mayor al obtenido con los modelos de Von Bertalanffy y Brody (Tabla 6).

Tabla 6. Modelo de Gompertz.

No.	Valor A	Error A	Valor B	Error B	Valor μ	Error μ	χ^2 Reducido	r^2 ajustado	Suma cuadrática de residuos
9	0,776	0,013	1,040	0,057	0,588	0,054	$3,361 \times 10^{-4}$	0,989	0,00202

Se puede concluir en este trabajo que el modelamiento matemático de la biocinética demostró ser de utilidad para la simulación del proceso de fermentación al describir el crecimiento de la biomasa producida por *Aspergillus niger*.

Contribuciones de los autores: Todos los autores contribuyeron de forma conjunta al trabajo informado.

Financiamiento: "Esta investigación no recibió financiamiento externo"

Conflictos de interés: "Los autores declaran no tener conflicto de interés".

REFERENCIAS

- Apunte, D., Fernández, D., & López, O., D. (2019). Obtención medio enriquecido en proteínas a partir de residuos de papa (*Solanum tuberosum*) por fermentación microbiana. *Alimentos, Ciencia e Ingeniería*, 27(1), 93–107.
- Arguero Tayupanta, A. P. (2014). Estudio de la producción de enzima amilasa mediante *Aspergillus niger* por fermentación sólida, con el uso de residuos agroindustriales.
- Calderón Vargas, J. F. (2017). Ajuste de un modelo cinético para el crecimiento de *Lactobacillus acidophilus* en la fermentación de un sustrato complejo.
- Castro, G., Valbuena, E., Sánchez, E., Briñez, W., Vera, H., & Leal, M. (2008). Comparison of Sigmoid Models Applied to the Growth of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*: Vol. XVIII.
- Chambi, D., & Torres Jiménez, A. M. (2021). Modelos cinéticos sigmoidales aplicados al crecimiento de *Saccharomyces boulardii*. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 23(1), 47–54.
- Colorado Hernández, S. (2018). Determinación de parámetros cinéticos de *Synechococcus* sp. pcc 7002 en cultivo sumergido. <https://repository.eafit.edu.co/handle/10784/13698?locale->

- attribute=es#.YqIgDBOWdQM.mendeley
- Cueva Calva, Y. M. (2017). Producción de amilasas mediante fermentación submersa de *aspergillus niger* para su empleo en procesos de panificación. <https://repositorioslatinoamericanos.uchile.cl/handle/2250/2792412#.YqEm9fodWb8.mendeley>
- de Castro, A. M., Teixeira, M. M., Carvalho, D. F., Freire, D. M., & Castilho, L. (2011). Multiresponse Optimization of Inoculum Conditions for the Production of Amylases and Proteases by *Aspergillus awamori* in Solid-State Fermentation of Babassu Cake. *Enzyme Research*, 457392.
- Ferrer Romero, J. C., Mas Diego, S. M., Beltrán Delgado, Y., Morris Quevedo, H. J., & Díaz Fernández, U. (2019). Kinetic study of the production of biomass and phenolic compounds for *Pleurotus ostreatus* in submerged phase. In *Rev. Cubana Quím* (Vol. 31, Issue 1). <http://ojs.uo.edu.cu/index.php/cq>
- Gómez Reyes, R., Medina Moreno, S. A., Jiménez González, A., & Lizardi Jiménez, M. A. (2017). AISLAMIENTO Y ANÁLISIS CUALITATIVO DE BIOMASA MICROBIANA FÚNGICA DEGRADADORA DE HIDROCARBUROS DE UN CENOTE DE QUINTANA ROO. *Especial Biotecnología e Ingeniería Ambiental*, 53–61. <https://doi.org/10.20937>
- Madigan, M. T., & Martinko, J. M. (2010). *Brock Biology of Microorganisms*. *International Microbiology*; Vol. 8, Núm. 2 (2005); 149-150.
- Mendez Alvarez, J. A. (2013). PRODUCCION DE ACIDO GLUCONICO APLICANDO CINETICA DE CRECIMIENTO MICROBIANO A PARTIR DE *Aspergillus niger* Y COMO MEDIO DE CULTIVO, DULCE DE ATADO.
- Nout, M. J. R. (2014). Food Technologies: Fermentation. *Encyclopedia of Food Safety*, 3, 168–177. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-378612-8.00270-5>
- Pérez, G., Larrosa, E., & Escámez, F. (2016). Modelos matemáticos para la descripción del crecimiento de microorganismos patógenos en alimentos. In *Anuario de Jóvenes Investigadores* (Vol. 9).
- Prescott, L. M., Harley, J. P., Klein, D. A., Carlos Gamazo de la Rasilla, T., York, N., Juan, S., Bogotá, S. de, & Paulo, S. (2002). *Microbiología*.
- Torres Vargas, G. M. (2013). Cuantificación del contenido de proteína celular (SCP) en la biomasa de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* producida a partir de residuos de cáscaras de naranja (*Citrus sinensis* l var valencia) y papa (*Solanum tuberosum*) variedad diacol capiro (R-12) para uso en la alimentación animal.

Universidad Nacional Abierta y a Distancia.

<https://repository.unad.edu.co/handle/10596/1070?locale-attribute=fr#.YqEXGcVvLhI.mendeley>

- Villegas R., D. A., Valbuena, N., & Milla P., M. E. (2019). Evaluación de modelos aplicados a la producción de materia seca de *Brachiaria brizantha* en el periodo lluvioso. *Revista de Ciencias Agrícolas*, 36(1), 33–45. <https://doi.org/10.22267/rcia.193601.96>
- Waglay, A., Achouri, A., Karboune, S., Zareifard, M. R., & L'Hocine, L. (2019). Pilot plant extraction of potato proteins and their structural and functional properties. *LWT*, 113, 108275. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2019.108275>
- Zapata M, J. E., Hoyos R, M., & Quinchía B, L. A. (2005). PARÁMETROS CINÉTICOS DE CRECIMIENTO DE *Saccharomyces cerevisiae* EN PRESENCIA DE UN CAMPO MAGNÉTICO VARIABLE DE BAJA INTENSIDAD Y ALTA FRECUENCIA FREQUENCY. *Vitae, Revista Sw La Facultad de Química Farmacéutica*, 12(1), 39–44.