

## PRODUCCION DE CELULASAS Y AMILASAS DE *Aspergillus niger* ITV-01 EN HARINA DE SORGO .

Pérez-Salazar Yerarli Isabel <sup>a</sup>, Del Moral Ventura Sandra T <sup>b</sup>, Barradas Dermitz Dulce María <sup>c</sup>, Aguilar Uscanga María Guadalupe <sup>a</sup>.

<sup>a</sup> Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Veracruz, Unidad de Investigación y Desarrollo de Alimentos, Veracruz, Ver., C.P. 91897, MÉXICO. [gaguilar@itver.edu.mx](mailto:gaguilar@itver.edu.mx).

<sup>b</sup> Cátedra-CONACyT, Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Veracruz-UNIDA

<sup>c</sup> Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Veracruz, Departamento de Ingeniería Química y Bioquímica.

*Palabras clave: amilasas, celulasas, harina de sorgo, Aspergillus niger* ITV-01

**Introducción.** *Aspergillus niger* ITV-01 fue aislado de residuos de bagazo de caña en la región de Orizaba, Ver., presenta enzimas con actividad  $\alpha$ -glucosidasa<sup>(1)</sup> y celulasa<sup>(2)</sup>, las cuales pueden utilizarse como biocatalizadores en la producción de biocombustibles. A nivel industrial se buscan sustratos de bajo precio con la finalidad de disminuir costos de producción. México es el cuarto productor de sorgo en el mundo, el grano, el jugo y el bagazo de sorgo se pueden utilizar para la producción de etanol de 1ª y 2ª generación, en cuanto al grano, éste se utiliza como alimento para ganado, cerdos, pollos, y se caracteriza por su alto contenido de glucanos (70%) y nutrientes, por lo que podría ser una materia prima para la producción de enzimas celulasas y amilasas.

El objetivo de este trabajo fue optimizar la producción de celulasas y amilasas en harina de sorgo variando la fuente y la concentración de nitrógeno, así como la agitación.

**Metodología.** Se caracterizaron tres variedades de harina de sorgo: Perla, Candy y Rojo en cuanto a contenido de glucanos. Para incrementar la producción de amilasas y celulasas de *A. niger* ITV-01 a 34°C en la primera etapa se evaluó el efecto de las fuentes de nitrógeno: sulfato de amonio ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), harina de soya y extracto de levadura, el tamaño de inóculo (1x10<sup>6</sup> y 1x10<sup>7</sup> esporas/mL) y la concentración de harina de sorgo (40, 60, 80 g/L). Una vez establecidas las mejores condiciones se evaluó, en un diseño de 2<sup>2</sup> con un punto central el efecto de la agitación (100, 200 y 300 rpm) y la concentración del sulfato de amonio (1, 3 y 5 g/L). La variable respuesta fue el tamaño de halos de hidrólisis de actividad celulasa, sobre carboximetil celulosa (1% w/v), y amilasa en almidón gelatinizado (1% w/v).

**Resultados.** En cuanto al contenido de glucanos en las variedades de grano de sorgo: Perla, Rojo y Candy, encontrando que la variedad con mayor contenido de glucanos fue el Perla (76%), por lo que su harina se utilizó como fuente de carbono. Posteriormente se evaluó el tamaño de inóculo y la concentración de harina de sorgo. Se observó que la mayor producción de enzimas se obtuvo utilizando 80 g/L de harina con un tamaño de inóculo de 1x10<sup>6</sup> esp/mL. Al evaluar la fuente de nitrógeno se observó que la utilización de fuentes de nitrógeno como extracto de levadura y harina de soya así como concentraciones elevadas de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (10 g/L) no favorecieron la producción de enzimas sino la producción de biomasa. En cambio, el sulfato de amonio a una concentración 3 g/L favoreció la expresión de enzimas, halo de 1.2 cm, comparado con concentraciones elevadas (10g/L) donde no se mostraron halos de actividad, por lo que se optó por esta fuente de nitrógeno. Una vez con las condiciones establecidas de concentración de fuente

de carbono y tamaño de inóculo, se evaluó la producción de enzimas variando la agitación (100, 200 y 300 rpm) y la concentración de sulfato de amonio (1, 3, 5 g/L). Se observó que a una agitación de 100 rpm y bajas concentraciones de sulfato de amonio (1 g/L) se favoreció la producción de amilasas, manifestando halos de actividad durante toda la fermentación, con una diferencia de 0.32 cm más en su máxima expresión, con respecto a la concentración de 5 g/L de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, donde la producción de enzimas comenzó a las 30 h. Al aumentar la agitación a 300 rpm y la concentración de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (5 g/L), se observó que la producción de amilasas se postergó, iniciando a las 12 h y terminó a las 36 h, mientras a una concentración de 1g/L de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> la producción de amilasas se presentó durante toda la fermentación. En contraste, cuando se utilizó 5 g/L de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> con 300 y 100 rpm, la expresión de la actividad celulasa se manifestó desde el inicio de la fermentación hasta su conclusión, presentando mayores halos de actividad a las 18 h de la fermentación; en cambio, con 1 g/L de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> no se vio favorecida la producción de celulasas, a 300 rpm sólo se manifestó un halo de actividad a las 30 h con una medida de 0.8 cm y a 100 rpm se manifestó únicamente a las 48h con una medida de 0.8 cm. Mientras que en el experimento central (3 g/L de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 200 rpm) se observó la expresión de amilasas a partir de las 12 h alcanzando su máxima expresión a las 24 h con un diámetro de 1.35 cm y las celulasas se presentaron durante toda la fermentación alcanzando la mayor expresión a las 18 h (1.3 cm).

**Conclusiones.** La agitación mostró un efecto positivo en la producción de amilasas, las condiciones que favorecieron fueron: 300 rpm y 1 g/L de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. La mayor actividad de celulasas se obtuvo con concentraciones elevadas (5 g/L) de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, sin observar un efecto de la agitación. La harina de sorgo es una alternativa de sustrato para la producción de enzimas utilizando *A. niger* ITV-01 con bajas concentraciones de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

**Agradecimientos.** Al fondo SAGARPA-CONACyT por el financiamiento proy # 291143 y por la beca de maestría de Pérez-Salazar (430805).

### Bibliografía.

- Chibuogwu Orji, J., Nweke, C., Nwabueze, R., Nwanyanwu, C. E., Alisi, C., & Etim-Osowo, E. (2009). Production and properties of  $\alpha$ -amylase from citrobacter species. *Ambiente y agua-An interdisciplinary Journal of applied Science*, 4(1), 45-57.
- Monga, M., Goyal, M., & Kalra, K. (2011). Production and stabilization of amylases from *Aspergillus niger*. *Mycosphere*, 2(2), 129-134.
- Nwamaka, T. N., & Ndubuisi, O. B. (2011). Extracellular Amylase Production of a Thermotolerant *Fusarium* sp. Isolated from Eastern Nigerian soil. *Brazilian archives of biology and technology*, 5(4), 649-658.

