

CONSIDERACIONES RELEVANTES EN LA PRODUCCIÓN DE CELULASAS EN ASPERGILLUS NIGER ITV-02

Sandra Trinidad del Moral Ventura¹, Yerarli Isabel Pérez Salazar², Alejandra Miranda Sosa², María Inés Infanzón Rodríguez², Daniel Arturo Zavala Ortíz, Javier Gómez Rodríguez, María Guadalupe Aguilar Uscanga²

¹Investigador de México-Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. Instituto Tecnológico de Veracruz/Unidad de Investigación y Desarrollo en Alimentos. Miguel Ángel de Quevedo 2779. Veracruz, Veracruz, México CP 91897 (sandit.dmv@gmail.com, sandra.dv@veracruz.tecnm.mx).

²Instituto Tecnológico Nacional de México/ Instituto Tecnológico de Veracruz/ Unidad de Investigación y Desarrollo en Alimentos. Miguel Ángel de Quevedo 2779. Veracruz, Veracruz, México CP 91897 (maria.au@veracruz.tecnm.mx).

Palabras clave: homopolímeros, fuente de nitrógeno, Aspergillus

Introducción. Las celulasas son enzimas que hidrolizan los enlaces b(1-4) de la celulosa, en los últimos años estas enzimas han tomado importancia debido a su uso imprescindible en la generación de biocombustibles de segunda generación (2G), aquellos provenientes de residuos lignocelulósicos, como el bioetanol, biobutanol, biopropanol, entre otros. A nivel mundial la disponibilidad de las celulasas para uso industrial es limitada, ya que su venta se encuentra monopolizada por las empresas líderes productoras de enzimas. *Aspergillus niger* ITV-02 es una cepa con potencial en la producción de celulasas: b-glucosidasas, endoglucanasas y exoglucanasas. En el Instituto Tecnológico de Veracruz se diseñó y edificó una planta piloto de bioetanol de 1G y 2G. Dado el requerimiento imprescindible de celulasas para la producción de bioetanol 2G, el objetivo de este trabajo es incrementar la producción y expresión de celulasas en *A. niger* ITV-02 evaluando condiciones de cultivo, fuentes de carbono, fuentes de nitrógeno, aditivos y modelos de optimización.

Metodología. Se evaluó el sistema de propagación en la producción de celulasas: en esporas y pellets. Para evaluar el efecto de la fuente de carbono se emplearon distintas fuentes: carboximetil celulosa (CMC), celulosa de bagazo de sorgo, bagazo de caña, bagazo de sorgo (BS), olote de maíz, rastrojo de maíz (RM), paja de cebada y cascarilla de arroz. La optimización se efectuó considerando fuentes de nitrógeno: sulfato de nitrógeno, extracto de levadura y peptona, condiciones de cultivo: pH, temperatura y agitación y Tween 80 mediante un modelo Box-Benhken.

Resultados. Se encontró que la mejor forma de propagación para la generación de celulasas en *A. niger* ITV-02 es a través del uso de esporas como inoculante. En cuanto a la fuente de carbono, la CMC y la celulosa de bagazo que son homopolímeros fueron las fuentes de carbono con menor efecto en la actividad

celulasa, en cambio aquellos materiales con celulosa y hemicelulosa y una relación alta de celulosa/lignina como el RM y BS incrementaron la actividad 4 veces. Es decir para la expresión de celulasas se requiere de una alta concentración de celulosa, hemicelulosa y una baja concentración de lignina. Así mismo la optimización de las fuentes de nitrógeno mediante un modelo Box-Behnken indicaron que se requieren bajas concentraciones de fuentes orgánicas como el extracto de levadura, aunque se requieren fuentes inorgánicas como el sulfato de amonio y urea. En cuanto a las condiciones fisicoquímicas óptimas obtenidas para la producción de celulasas por *A. niger* ITV-02 usando un modelo Box Benkhen fueron: 33°C, pH 5.3 y 200 rpm incrementando la actividad FPAsa de 0.127 U/mL hasta 0.215 U/mL, 1.7 veces. Por otro lado, el empleo de surfactantes como el Tween 80, tiene un efecto positivo en la segregación de celulasas en *A. niger* ITV-02. Todas las condiciones evaluadas y optimizadas han incrementado la expresión de celulasas casi 20 veces hacia la producción de b-glucosidasa pasando de 0.51 U/mL a 10.8 U/mL.

Conclusiones. El empleo de esporas, de sustratos complejos con alto contenido de celulosa y hemicelulosa en conjunto un bajo contenido de lignina, además de fuentes de nitrógeno orgánicas e inorgánicas, con una agitación moderada además del empleo de surfactantes incrementó más de 20 veces la producción de celulasas en *A. niger* ITV-02, confirmando el potencial del microorganismo para la producción de celulasas para la generación de bioetanol 2G.

Agradecimiento. Al COVEICYDET por el proyecto 11111304.

Bibliografía. Infanzon-Rodriguez et al. (2020) <https://doi.org/10.1007/s12355-019-00765-2>. Pérez-Salazar, Y. I., Peña-Montes, C., del Moral, S., & Aguilar-Uscanga, M. G. Cellulases production from *Aspergillus niger*-ITV-02 using corn lignocellulosic residues