

PRODUCCIÓN DE CELULASAS DE *Aspergillus niger* ITV-02 UTILIZANDO DIFERENTES RESIDUOS LIGNOCELULÓSICOS

Alejandra Miranda Sosa^a, Sandra Trinidad del Moral Ventura^a, José Manuel Domínguez González^b, María Guadalupe Aguilar Uscanga^a

^aTecnológico Nacional de México /Instituto Tecnológico de Veracruz, Unidad de Investigación y Desarrollo de Alimentos (UNIDA), Veracruz, Ver, CP. 91897. México. gaguilar@itver.edu.mx

^bCentro de Investigación, Transferencia e Innovación (CITI), San Cibrao das Viñas, Ourense, CP. 32900. España.

Palabras clave: celulasas, residuos lignocelulósicos, Aspergillus niger

Introducción.

Las celulasas son enzimas que hidrolizan enlaces β -1-4 presentes en la celulosa, obteniendo como producto final monómeros de glucosa (1). Son las segundas enzimas con mayor demanda a nivel industrial y con mayor aporte económico debido a sus diversos usos y su alto costo de producción (1). Actualmente su uso en la producción de biocombustibles ha aumentado, sin embargo, el uso de celulasas en dicho proceso representa una barrera económica para la factibilidad del mismo debido a su alto costo (2).

El objetivo de este estudio fue evaluar el uso de diferentes residuos lignocelulósicos: bagazo de caña (BC), bagazo de sorgo (BS), rastrojo de maíz (RM), cáscara de arroz (CA) y paja de cebada (PC) como sustrato y su concentración (10, 20 y 30 g/L) sobre la producción de celulasas en *A. niger* ITV-02.

Metodología.

La producción de celulasas se llevó a cabo en fermentación sumergida utilizando medio sintético Mandels y Weber (3) modificando el carbohidrato por el residuo lignocelulósico a evaluar, el cual fue previamente deslignificado mediante una hidrólisis alcalina y caracterizado mediante la metodología del National Renewable Energy Laboratory (NREL). La fermentación se realizó con un inóculo de 6×10^6 esp/mL de la cepa *A. niger* ITV-02 a 30°C, pH 5.5, 250 rpm por 120 horas, cada extracto obtenido fue centrifugado y microfiltrado. Las variables de respuesta fueron la actividad celulasa total (FPasa), la actividad endo- β -1,4-glucanasa (CMCasa) (3) y la actividad β -glucosidasa (β GL) (4) para todas las pruebas. También se evaluó el efecto de la concentración de sustrato (10, 20 y 30 g/L). Todos los experimentos se analizaron por la Prueba de Tukey ($P > 0.95$).

Resultados.

El pretratamiento removió parcialmente la lignina de los residuos, en la Tabla 1 se muestra el contenido lignocelulósico final. Al evaluar el efecto de los distintos sustratos en la actividad CMCasa no se detectó diferencia significativa, mientras que en la actividad FPasa se observó que con el BS y el RM se obtuvo la mayor actividad (Tabla 2), al obtener 0.242 FPU/mL y 0.230 FPU/mL respectivamente. Sin embargo, al evaluar la actividad β GL se observó que con el RM se obtuvo una mayor actividad contra los otros residuos (0.102 U/mL). Debido a esto, la evaluación de la concentración de sustrato se realizó con RM. Al evaluar el efecto de la concentración de sustrato, se observó que a mayor cantidad de sustrato la actividad enzimática disminuye, siendo 10 g/L la concentración con la cual se obtiene un extracto enzimático con mayor actividad (Tabla 3).

Tabla 1. Caracterización de los residuos lignocelulósicos.

Material lignocelulósico	Celulosa (%)	Hemicelulosa (%)	Lignina (%)
Bagazo de caña	59.34 \pm 1.00	24.78 \pm 0.12	14.52 \pm 0.31
Bagazo de sorgo	59.31 \pm 1.96	24.68 \pm 1.50	11.39 \pm 0.29
Rastrojo de maíz	64.64 \pm 0.29	20.38 \pm 0.67	4.42 \pm 1.02
Cáscara de arroz	49.82 \pm 2.31	15.29 \pm 0.08	17.26 \pm 1.35
Paja de cebada	57.78 \pm 0.27	18.58 \pm 0.68	11.12 \pm 0.41

Tabla 2. Efecto de residuos lignocelulósicos en la producción de celulasas.

Material lignocelulósico	CMCasa (U/mL)	FPasa (FPU/mL)	β GL (U/mL)
Bagazo de caña	0.023 ^a	0.174 ^b	0.054 ^b
Bagazo de sorgo	0.027 ^a	0.242 ^c	0.091 ^c
Rastrojo de maíz	0.034 ^a	0.230 ^c	0.106 ^d
Cáscara de arroz	0.027 ^a	0.060 ^a	0.004 ^a
Paja de cebada	0.027 ^a	0.171 ^b	0.062 ^b

Tukey ($P > 0.95$) Letras diferentes hay diferencia significativa

Tabla 3. Efecto de la concentración de sustrato en la producción de celulasas.

Actividad enzimática	10 g/L	20 g/L	30 g/L
CMCasa (U/mL)	0.059 ^c	0.026 ^b	0.012 ^a
FPasa (FPU/mL)	0.231 ^c	0.060 ^b	0.042 ^a
β GL (U/mL)	0.095 ^c	0.021 ^b	0.011 ^a

Tukey ($P > 0.95$) Letras diferentes hay diferencia significativa

Conclusiones. La producción de celulasas por *A. niger* ITV-02 se ve favorecida utilizando RM como sustrato debido a su bajo contenido de lignina y alto porcentaje de celulosa lo cual podría favorecer la expresión del complejo celulolítico y con una concentración de 10 g/L ya que a mayor concentración de sustrato el microorganismo tiende a formar biomasa. Este trabajo confirma el uso de diferentes residuos lignocelulósicos como sustrato para la producción de celulasas lo que presenta ventajas técnicas y económicas para su escalamiento.

Agradecimientos. Este estudio fue financiando por el Proyecto CONACYT-SAGARPA No. 2017-03-291143.

Bibliografía

- Singhania, R., et al. (2017). Cellulases. En: *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering*. Pandey, A., Negi, S. y Soccol, C. (eds). Elsevier. Pág-pág. 73-101.
- Basile, A. et al. (2018). *Ethanol: Science and Engineering*. Elsevier.
- Mandels, M. y Weber, J. (1969). *Adv. Chem. Ser.* (1969) 391-414.
- Singhania, R. et al. (2011). *Process Biochem.* 46: 1521-1524.

