

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO



FACULTAD DE INGENIERÍA CARRERA DE INGENIERÍA AMBIENTAL

Proyecto de Investigación previo a la obtención del título de Ingeniero Ambiental.

TRABAJO DE TITULACIÓN

“EVALUACION DE LA CAPACIDAD DEGRADADORA DE
Trichoderma sp. Y *Aspergillus* sp. EN BAGAZO DE LA CAÑA DE
AZÚCAR”

Autor

JONATHAN NAUN AMAYA LEMA

Tutora

Ing. Ana Belén Mejía P. M.Sc.

Riobamba - Ecuador

2021

Página de aceptación de la Investigación por los miembros del Tribunal

CERTIFICADO DEL TRIBUNAL

Los miembros del Tribunal de Graduación del proyecto de investigación de título:
 “EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DEGRADADORA DE *Trichoderma* sp. Y
Aspergillus sp. EN BAGAZO DE LA CAÑA DE AZÚCAR”

Presentado por: JONATHAN NAUN AMAYA LEMA

Dirigido por: Ing. Ana Belén Mejía P. M.Sc.

Una vez escuchada la defensa oral y revisado el informe final del proyecto de investigación con fines de graduación escrito en la cual se ha constatado el cumplimiento de las observaciones realizadas, remite la presente para uso y custodia en la biblioteca de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional de Chimborazo.

Para constancia de lo expuesto firman:

Ing. Patricio Santillán M.Sc.
Presidente del Tribunal



Firma

Ing. Ana Belén Mejía M.Sc.
Director del Proyecto



Firma

Dr. José Prato PhD.
Miembro del Tribunal



Firma

Ing. María Fernanda Rivera M.Sc.
Miembro del Tribunal



Firma

DECLARACIÓN EXPRESA DE TUTORÍA

Por la presente, certifico que el actual trabajo de investigación previo la obtención del título de INGENIERO AMBIENTAL, elaborado por: JONATHAN NAUN AMAYA LEMA con el tema EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DEGRADADORA DE *Trichoderma* sp. Y *Aspergillus* sp. EN BAGAZO DE LA CAÑA DE AZÚCAR, el mismo que fue analizado y supervisado bajo mi asesoramiento en calidad de tutor y guía, por lo que se encuentra apto para ser presentado y defendido.

Es todo cuanto puedo informar en honor a la verdad.



Ing. Ana Belén Mejía P. M.Sc.

CI. 0603877499

Tutora del proyecto

AUTORÍA DE LA INVESTIGACIÓN

Yo, JONATHAN NAUN AMAYA LEMA con cédula de identidad N.º 0503751612, soy responsable de las ideas, doctrinas, resultados y propuesta realizada en la presente investigación y patrimonio intelectual de la misma a la Universidad Nacional de Chimborazo.



Jonathan Naun Amaya Lema

CI. 0503751612

Autor del proyecto

AGRADECIMIENTO

La universidad me dio la bienvenida al mundo como tal, las oportunidades que me ha brindado son incomparables, en primer lugar, agradezco a Dios por haberme permitido culminar mis estudios universitarios, agradezco a mi tutora Ing. Ana Belén Mejía por su ayuda técnica y a mis maestros por enseñarme las temáticas necesarias para poder culminar la carrera, y para finalizar, como no agradecer a las personas que estuvieron ahí en las mejores y peores etapas de mi vida dándome su apoyo incondicional y motivacional muchas gracias a todos quienes confiaron en mí.

DEDICATORIA

Dedico la presente tesis a mis padres, por haberme dado la vida y hacer de mi un hombre de bien, por impartir cada una de sus palabras y enseñanzas que hoy me ayudan a culminar una etapa más de mi vida, ya que son un pilar fundamental y apoyo en las decisiones que me ha tocado tomar en el transcurso de mi vida.

De igual manera el presente estudio investigativo se las dedico a todas las personas que creyeron y apoyaron para culminar mis estudios universitarios.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tiene como objetivo evaluar bibliográficamente la capacidad degradadora de *Trichoderma* sp. y *Aspergillus* sp. en bagazo de caña de azúcar, para lo cual se llevó a cabo una revisión bibliográfica, en estos estudios se analizó la velocidad de descomposición de bagazo de caña de azúcar por *Trichoderma* sp, y *Aspergillus* sp., y se comparó la información obtenida de los dos géneros de hongos. Se observó que cada uno de los hongos posee características que los hacen eficientes al momento de descomponer el bagazo de caña de azúcar, y que la eficiencia de degradación depende del medio en el cual son inoculados además de las características de los sustratos como: pH, temperatura, materia orgánica y carbono orgánico total. Se presentó de cada estudio un análisis de la actividad enzimática, para el género *Aspergillus* el hongo que alcanzó el mayor valor fue *A. niger* con 0.3 UI/mL en enzimas celulasas, mientras que en el género de *Trichoderma* la especie con mayor producción enzimática fue *T. reesei* el cual presentó un valor de 0.59 UI/mL. Se determinó que el tiempo de descomposición de la lignocelulosa varía de manera exponencial con respecto a la velocidad de producción enzimática. El tiempo más corto de degradación de bagazo de caña de azúcar fue de 5 horas por parte de *Trichoderma longibrachiatum*. Al analizar la capacidad degradadora de los hongos se puede fomentar el uso de los residuos lignocelulósicos para fabricar abonos orgánicos o como alimentos para animales.

Palabras clave: // *Trichoderma* sp. / *Aspergillus* sp. / Bagazo de caña de azúcar/

Velocidad de crecimiento / Actividad enzimática / Tiempo de degradación //

ABSTRACT

The present research work aims to evaluate bibliographically the *Trichoderma* and *Aspergillus* sp. degrading capacity sp. in sugarcane bagasse, for which a bibliographic review was carried out, these studies decomposition speed of sugarcane bagasse by *Trichoderma* sp and *Aspergillus* sp. was contrasted and the information obtained from the two genera of fungi. It has been realized that each of the fungi has characteristics that make them efficient when decomposing the sugarcane bagasse, and that the degradation efficiency depends on the environment in which they are immunized in addition to the features of the substrates such as pH, temperature, organic matter, and total organic carbon. An analysis of the enzymatic activity was hand over from each study, the *Aspergillus* genus, the fungus that reached the highest value was *A. niger* with 0.3 IU / mL in cellulase enzymes, while in the *Trichoderma* genus the species with the highest enzyme production was *T. reesei* he presented a value of 0.59 IU / mL. Lignocellulose decomposition time varies exponentially concerning the rate of enzyme production. The shortest degradation time of sugarcane bagasse was 5 hours by *Trichoderma longibrachiatum*. By analyzing the degrading capacity of fungi, the use of lignocellulosic residues makes organic fertilizers or food by animals.

Keywords: // *Trichoderma* sp. / *Aspergillus* sp. / Sugarcane bagasse / Growth speed / Enzyme activity / Degradation time //

Reviewed by:



firmado electrónicamente por:
EDUARDO SANTIAGO
BARRENO FREIRE

Lic. Eduardo Barreno Freire

ENGLISH PROFESSOR

C.C. 0604936211

ÍNDICE

CERTIFICADO DEL TRIBUNAL	i
DECLARACIÓN EXPRESA DE TUTORÍA.....	ii
AUTORÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....	iii
AGRADECIMIENTO	iv
DEDICATORIA.....	v
RESUMEN.....	vi
ABSTRACT.....	vii
ÍNDICE.....	viii
ÍNDICE DE TABLAS.....	x
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	3
1.1 Problema.....	3
1.2 Objetivos	5
1.2.1 Objetivo General:	5
1.2.2 Objetivos Específicos:.....	5
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	6
2.1 Caña de Azúcar	6
2.1.1 Industrias Azucareras	7
2.1.2 Principales Ingenios Azucareros del País.....	7
2.1.3 Composición de la Caña de Azúcar.....	7
2.1.3.1. El tallo de la caña de azúcar.....	8
2.1.3.2. Sacarosa.....	9
2.1.4 Clima y Suelo para la Siembra de la Caña de Azúcar	9
2.2 Bagazo de la Caña de Azúcar	10
2.2.1 Composición del Bagazo de la Caña de Azúcar.....	11
2.2.1.1 Materiales Lignocelulósicos	12
2.2.1.2 Celulosa	12
2.2.1.3 Hemicelulosa.	13
2.2.1.4. Lignina.....	14
2.2.1.5. Pretratamientos de los materiales lignocelulósicos.....	15
2.3 Hongos.....	16
2.3.1.1 Hábitats y Requerimiento Edafoclimáticos.....	17
2.4 Enzimas.....	22

2.4.1 Actividad Enzimática	22
CAPÍTULO III. METODOLOGÍA	23
3.1. Revisión bibliográfica.....	23
3.2. Revisión científica.....	23
3.3. Revisión sistemática.....	23
3.4. Técnica comparativa	23
3.5. Método Cualitativo.....	24
3.6. Método Cuantitativo	24
3.7 Población.....	25
3.8 Muestra	26
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	27
4.1 Composición Química del Bagazo de la Caña de Azúcar	27
4.2 Enzimas producidas por hongos en bagazo de caña de azúcar	28
CONCLUSIONES.....	37
RECOMENDACIONES.....	38
BIBLIOGRAFÍA.....	39
ANEXOS ANEXO A.....	43
ANEXO B	44
ANEXO C	45
ANEXO D	46

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Constituyentes de la Caña de Azúcar	8
Tabla 2. Composición Química del Bagazo de la Caña de Azúcar	11
Tabla 3. Pretratamientos de los Materiales Lignocelulósicos.....	15
Tabla 4. Reino de los Hongos	19
Tabla 5. Constituyentes Estructurales del Bagazo de Caña de Azúcar	27
Tabla 6. Tipos de Enzimas Producidas por Hongos en Bagazo de Caña de Azúcar	28
Tabla 7. Comparación de la Actividad Enzimática de los Hongos <i>Trichoderma</i> sp. y <i>Aspergillus</i> sp. en la Degradación del Bagazo de la Caña de Azúcar en Relación de la Temperatura	33
Tabla 8. Tiempos de Descomposición del Bagazo de Caña de Azúcar y Velocidades de Actividad Enzimática	35

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Tallo de la Caña de Azúcar.....	9
Figura 2. Formación de la Sacarosa	9
Figura 3. Bagazo de la Caña de Azúcar	11
Figura 4. Lignocelulosa	12
Figura 5. Celulosa.....	13
Figura 6. Estructura de la Hemicelulosa	14
Figura 7. Estructura de la Lignina.....	14
Figura 8. Conidios y Conidióforos de <i>Trichoderma</i> sp.	19
Figura 9. <i>Aspergillus niger</i>	21
Figura 10. Relación Especie vs. Actividad Enzimática y Temperatura.....	34
Figura 11. Producción de Celulasas por <i>Aspergillus niger</i> , hasta 20 Días de Incubación	43
Figura 12. Producción de Celulasa en Función del Tiempo.....	44
Figura 13. Relación de la Velocidad con la Dosificación de Enzima.....	45
Figura 14. Productividad de las Cepas EC-623 y EP-415 en los Distintos Tiempos de Fermentación.	46

INTRODUCCIÓN

La producción de caña de azúcar en el Ecuador es de 76158.1 hectáreas aproximadamente, alcanzando una producción de 5427598.7 toneladas de caña molida, siendo una actividad que representa el 8.7% del PIB agrícola nacional. Este producto es utilizado para la producción de azúcar, panela, alcohol y como consumo artesanal. De la industria azucarera se obtiene como subproductos el bagazo y la melaza (Peña, 2020).

El bagazo es el residuo fibroso, considerado también como material lignocelulósico, que queda de la caña después de ser exprimido y de pasar por el proceso de extracción, presenta características óptimas para el aprovechamiento en otra cadena de producción o como alternativa de tratamiento o recuperación de algún medio contaminado (Pernalet *et al.*, 2008).

La inoculación con hongos a los residuos lignocelulósicos, en la actualidad es una opción viable, puesto que, disminuye el tiempo de compostaje y mejora las características y propiedades del producto final. Los hongos *Aspergillus* sp. y *Trichoderma* sp. son considerados como organismos lignocelulolíticos (Cabeza *et al.*, 2002).

Aspergillus sp. y *Trichoderma* sp. son los principales responsables de la degradación de lignina y celulosa, asociando la capacidad degradadora al crecimiento micelial que permite al hongo transportar nutrientes escasos, como el nitrógeno y hierro, a distancias considerables dentro del sustrato lignocelulósico que constituye su fuente de carbono. Estos hongos también requieren de N en cantidades grandes para la síntesis de enzimas que son necesarias para extraer los nutrimentos del medio (Sánchez, 2009).

El bagazo de caña de azúcar, puede ser degradado por varios tipos de bacterias y hongos, como son el *Trichoderma* sp. y *Aspergillus* sp., en esta investigación bibliográfica se

determinará cuál de estos géneros tiene mayor acción descomponedora y cuál es la velocidad de descomposición (Moreno, 2013).

CAPÍTULO I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Problema

La excesiva producción de bagazo de caña de azúcar representa problemas a los agricultores que la cultivan tanto en su recolección como en la disposición final, tiene como resultados, impactos negativos para el ambiente, debido al tiempo de descomposición y al volumen que ocupa en el botadero de basura (Moreno *et al.*, n.d.).

Las industrias azucareras generan grandes volúmenes de residuos sólidos, siendo estos agroindustriales, una fuente de contaminación de agua, aire y suelo, si no tienen un manejo adecuado. El bagazo de la caña de azúcar es el residuo que se obtiene después de extraer el jugo, incluyendo materias terrosas e impurezas orgánicas. Según varios estudios se determina que por cada tonelada de tallos procesados se obtienen de 250 a 400 kg de bagazo (Lagos-Burbano & Castro-Rincón, 2019).

Este residuo causa un gran problema, al ser desechado sin previo tratamiento adicionado a los cultivos para ser utilizado como abono orgánico, ya que al ser un material muy fibroso presenta una degradación lenta y no contribuye como un acondicionador edáfico al suelo (González, 2018). Se considera que el bagazo no se degrada fácilmente debido a la insuficiencia de nitrógeno, ya que este compuesto no satisface los requerimientos de los organismos que intervienen en la descomposición, y no generan los macro y micronutrientes necesarios para el suelo (Ramos-Agüero & Terry-Alfonso, 2014).

La presente investigación sobre el estudio comparativo de la capacidad degradadora de *Trichoderma* sp. y *Aspergillus* sp., en bagazo de la caña, plantea una alternativa de solución a este grave problema ambiental. Ya que, al degradarse el bagazo

de la caña de azúcar en compuestos más simples, este puede ser utilizado como abono y ser reincorporado al suelo, y de esta manera también se contribuye al uso de abonos orgánicos, disminuyendo el uso de abonos químicos.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo General:

- Evaluar bibliográficamente la capacidad degradadora de *Trichoderma* sp. y *Aspergillus* sp. en bagazo de caña de azúcar.

1.2.2 Objetivos Específicos:

- Analizar la velocidad de descomposición de bagazo de caña de azúcar por *Trichoderma* sp. y *Aspergillus* sp.
- Comparar la información obtenida de *Trichoderma* sp. y *Aspergillus* sp. para conocer el género con mayor capacidad descomponedora en bagazo de caña de azúcar.
- Determinar la capacidad de producción de enzimas de *Trichoderma* sp. y *Aspergillus* sp.; y su importancia en el proceso de degradación de bagazo de caña de azúcar.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1 Caña de Azúcar

La caña de azúcar es un cultivo de alta importancia en Ecuador, del cual se extrae el azúcar que es un producto que forma parte de la canasta básica de los ecuatorianos y es ingrediente fundamental de muchos alimentos elaborados y semielaborados de consumo masivo (Castillo & Silva, 2004).

El nombre común de esta especie herbácea es *Saccharum officinarum*, tiene un tallo leñoso del género (*Saccharum*) de la familia de las gramíneas (*Gramineae*), originaria de la Melanesia (Rodríguez & Sánchez, 2005).

La caña de azúcar, más que un cultivo y una actividad empresarial, ha representado toda una cultura para los países productores (alrededor de 130), en virtud de que su presencia ha sido muy amplia e intensa desde el siglo XVI y ha acompañado los procesos de colonización y desarrollo de numerosos países, y son muchas las formas y manifestaciones a través de las cuales esa planta y sus subproductos han intervenido en el quehacer de los pueblos (*Ficha Técnica del cultivo de Caña de Azúcar*, 2015). La caña de azúcar es considerada como un producto agroindustrial que sirve para la elaboración de azúcar y otros derivados con fines de consumo, así lo afirma Villarroel (2006):

La caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L) es una gramínea tropical, un pasto gigante emparentado con el sorgo y el maíz en cuyo tallo se forma y acumula un jugo rico en sacarosa, compuesto que al ser extraído y cristalizado en el ingenio forma el azúcar. La sacarosa es sintetizada por la caña gracias a la energía tomada del sol durante la fotosíntesis.

2.1.1 Industrias Azucareras

La industria azucarera se dedica a la producción y comercialización de azúcar, presentando también productos derivados como el biocombustible etanol, este producto ayuda a reducir las emisiones de CO₂ de los combustibles fósiles. Los ingenios azucareros alcanzan su capacidad máxima de producción en temporada de zafra, que es el tiempo de corte de caña cuando esta ha alcanzado su óptimo desarrollo, durando un tiempo de seis meses. Se estima por año cosechas en promedio cerca de 75 toneladas por hectárea de caña de azúcar, con un rendimiento de azúcar de 220 libras de azúcar por hectárea (Tigua & Espinoza, 2013).

2.1.2 Principales Ingenios Azucareros del País

Ecuador presenta gran variedad de Ingenios Azucareros entre los cuales tenemos: Ingenio San Carlos, el cual se encuentra ubicado entre los ríos Chimbo y Chancán, en la provincia del Guayas, la industria está posesionada desde el año 1987, en la actualidad cuenta con una extensión de 25000 ha de caña de azúcar. El Ingenio San Carlos muele anualmente 2000000 de toneladas métricas de caña (Lynch, 2016).

Ingenio la Troncal está ubicado en la provincia del Cañar a 76 km de la ciudad de Guayaquil, está posesionada desde el año de 1963, produce anualmente de molienda 1500618 toneladas métricas de caña, dispone de una extensión de 23262 ha netas de caña. Ingenio Valdez está posesionada desde el año 1884, se ubica en la ciudad de Milagro, cuenta con una extensión de, ha, anualmente muelen 1140000 toneladas de caña equivalentes a 2348400 sacos de 50 kg de azúcar de cada uno (Lynch, 2016).

2.1.3 Composición de la Caña de Azúcar

En la composición química de la caña de azúcar intervienen varios factores directos e indirectos que actúan sobre sus contenidos, entre los cuales se puede manifestar la ubicación, las condiciones del clima, las variedades o especies, la edad de la caña, las

propiedades de madurez de la plantación, el crecimiento del tallo, el tiempo, las características físico-químicas y microbiológicas del suelo, el grado de humedad (ambiente y suelo), el modo de fertilización, entre muchos otros, tal como se puede evidenciar en la Tabla 1 (Chen, 1991).

Tabla 1. Constituyentes de la Caña de Azúcar

Variable	Porcentaje (%)
Agua	73 – 76
Sacarosa	8 – 15
Fibra	11– 16

Fuente: Chen (1991)

2.1.3.1. El tallo de la caña de azúcar

Pertenece a la sección anatómica y estructural de la planta, el cual presenta mayor valor económico e interés para la fabricación de azúcar y la elaboración de alcohol. En el tallo se encuentran nudos y entrenudos que contiene gran cantidad de sacarosa utilizado en el proceso industrial para los ingenios azucareros. Entre las características físicas del tallo de la caña de azúcar se puede encontrar: el tamaño, el cual varía entre 1.5 hasta los 4 metros de longitud; el grosor que puede medir 1.5 a 3.5 cm de diámetro y el peso que varía entre los 300 g hasta los 6 kg.

El tallo de la caña de azúcar presenta un color diferente conforme a las condiciones que esté expuesta al sol, nutrientes, agua, etc. La forma es rígida y cilíndrica posee yemas que están situadas en los entrenudos y están cubiertos por la vaina foliar, tal como se puede evidenciar en la Figura 1 (Fauconnier, 1975).

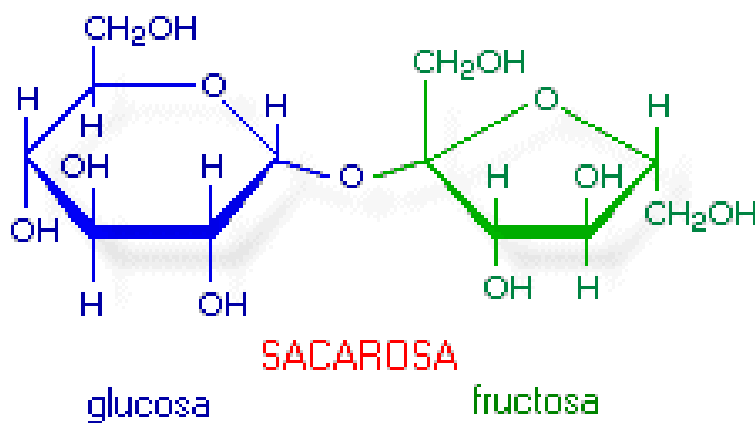


Figura 1. Tallo de la Caña de Azúcar

Fuente: Chen (1991)

2.1.3.2. *Sacarosa.*

Se encuentra en muchos vegetales disuelta en la sabia; pero no en cantidad suficiente para su obtención industrial. La caña de azúcar es su principal fuente de producción. La sacarosa es un disacárido producido por la condensación de glucosa y fructosa (Figura 2), su fórmula empírica es $C_{12}H_{22}O_{11}$, y su peso molecular es de 342.30 g/mol (Chen, 1991).



Fuente: Chen (1991)

2.1.4 *Clima y Suelo para la Siembra de la Caña de Azúcar*

De acuerdo con varios autores el clima es una condición para el proceso de siembra de la caña de azúcar indicando lo siguiente:

La caña de azúcar requiere altas temperaturas durante el periodo de crecimiento y bajas temperaturas durante el periodo de maduración, mientras más grande sea la diferencia entre las temperaturas máximas y mínimas durante la maduración, mayores serán las posibilidades de obtener jugos de alta pureza y un mayor rendimiento de azúcar. Las temperaturas óptimas para diferentes etapas del desarrollo de este cultivo son: para la germinación entre 32°C y 38°C, para el macollamiento 32°C, para el crecimiento 27°C. La precipitación anual adecuada para este cultivo es de 1500 mm bien distribuido durante el periodo de crecimiento (nueve meses). La caña necesita la mayor disponibilidad de agua en la etapa de crecimiento y desarrollo; durante el periodo de maduración esta cantidad debe reducirse, para restringir el crecimiento y lograr el acúmulo de sacarosa (Fauconnier, 1975).

2.2 Bagazo de la Caña de Azúcar

El bagazo de la caña de azúcar (Figura 3) es considerado como un residuo agroindustrial, este material lignocelulósico está constituido por celulosa, hemicelulosa y lignina. Se lo obtiene como residuo en las industrias azucareras después de la extracción del jugo de caña de azúcar, por medio de molino o prensa. En algunos ingenios cierta cantidad el bagazo es quemado para producción de energía, también es utilizado en la industria papelera, y un porcentaje es desechado al ambiente, sin tener un tratamiento previo (Pernalet *et al.*, 2008).

Es un residuo que presenta gran cantidad de fibra, por lo tanto, no puede ser utilizado como alimento para animales rumiantes, ya que es de difícil digestibilidad por tener una estructura compleja (Pernalet *et al.*, 2008).



Figura 3. Bagazo de la Caña de Azúcar

Fuente: Mantilla (2012)

2.2.1 Composición del Bagazo de la Caña de Azúcar

La composición química del bagazo de la caña de azúcar se encuentra constituido principalmente por 32% de celulosa, 37.5% de hemicelulosa y 18% de lignina. El bagazo de caña de azúcar es un residuo que se obtiene de la extracción del jugo de la caña y representa aproximadamente entre el 25 y 40% del total de materia procesada, dependiendo del contenido de fibra de la caña y la eficiencia en la extracción de jugo. El bagazo de caña de azúcar es considerado como un material lignocelulósico por la cantidad de fibra que contiene, además de otros elementos, así como se indica en la Tabla 2 (Cunningham & López, 1994).

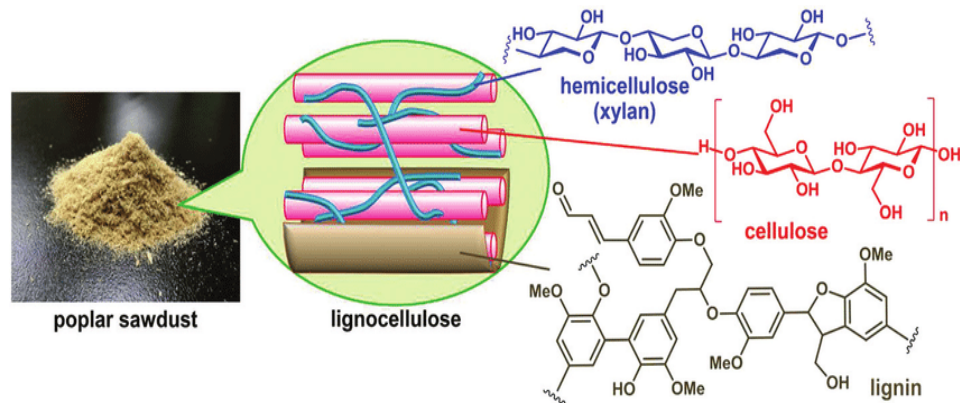
Tabla 2. Composición Química del Bagazo de la Caña de Azúcar

Elemento	Valdez (%)	San Carlos (%)
Hidrógeno	2.53	3.28
Carbono	24.08	23.48
Nitrógeno	0.17	-
Oxígeno	21.43	23.23
Sulfuro	0.25	-
Humedad	49.50	49.50
Ceniza	2.03	0.51

Fuente: Díaz (1996)

2.2.1.1 Materiales Lignocelulósicos

La lignocelulosa está formada por tres tipos de polímeros: la lignina, celulosa y hemicelulosa (Figura 4). Esta composición y sus porcentajes varían dependiendo de las especies de plantas, la edad y la etapa de crecimiento (Cuervo *et al.*, 2009).



Fuente: Hernández (2017)

2.2.1.2 Celulosa

Es el principal componente de las paredes celulares de los árboles y otras plantas (Badui, 2006). Presenta una estructura lineal o fibrosa, estableciendo múltiples puentes de hidrógeno entre los grupos hidroxilo de distintas cadenas yuxtapuestas de glucosa (Figura 5), lo que las hace resistentes e insolubles en el agua (Córsico *et al.*, 2013). La celulosa está compuesta por subunidades de D-glucosa unidas por un enlace glucosídico β 1-4. Las capas de celulosa se juntan y forman las llamadas fibrillas de celulosa o paquetes de celulosa, estas fibrillas de celulosa son en su mayoría independientes y débilmente unidas a través de enlaces de hidrógeno. La celulosa es una molécula filamentosa, larga, debido a la naturaleza fibrosa de sus productos (Cortes, 2014).

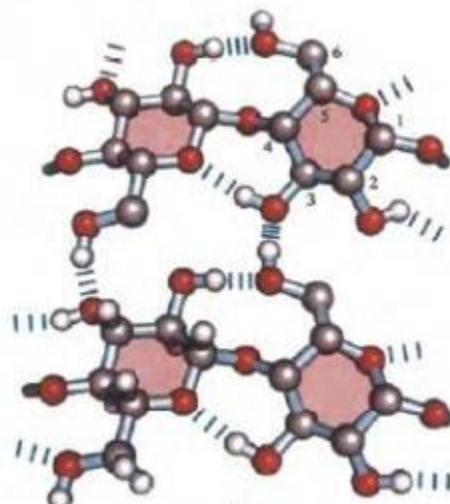


Figura 5. Celulosa

Fuente: (Nelson & Cox, 2009)

2.2.1.3 Hemicelulosa.

Conocidas también como poliosas, se encuentra en las plantas del reino vegetal y en las plantas capaces de producir madera. Son sustancias amorfas que tienen un bajo grado de cristalinidad, y esto permite una accesibilidad mucho mayor de los reactivos químicos (Munguía, 2016). Las hemicelulosas, a diferencia de la celulosa están compuestas de diferentes azúcares formando cadenas más cortas y con ramificaciones como se indica en la Figura 6 (Mantilla, 2012).

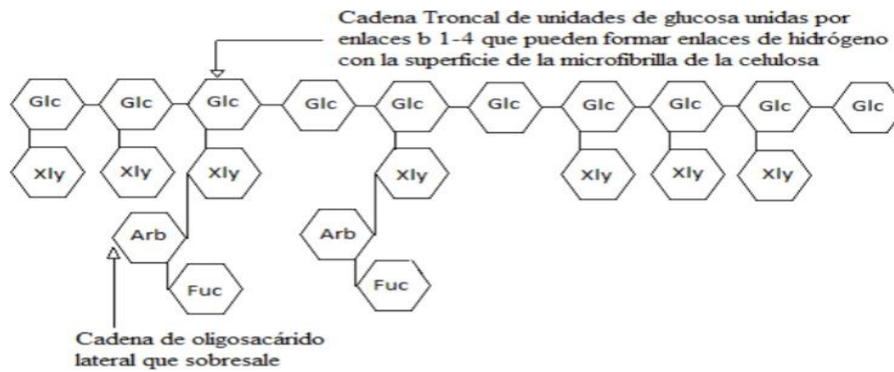
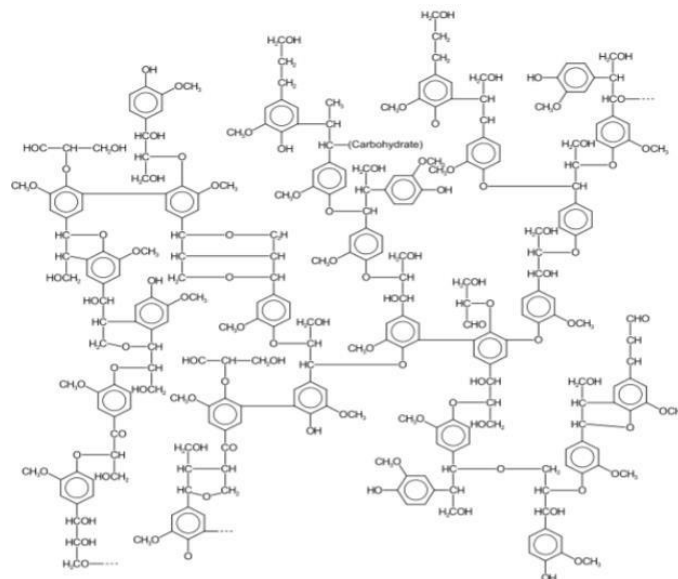


Figura 6. Estructura de la Hemicelulosa

Fuente: Mantilla (2012)

2.2.1.4. Lignina

Después de la celulosa, la lignina se considera como el material orgánico de origen natural más abundante en el planeta. El contenido en masa de la misma depende del origen de la especie vegetal (Lu *et al.*, 2017). Las ligninas son polímeros mixtos (Figura 7), constituyen las células fibrosas de los vegetales, sus moléculas son grandes, ramificadas y resistentes tanto al ataque de las sustancias químicas como la acción de los microorganismos, es soluble en el agua al ser disuelta por reactivos sódicos (Mantilla, 2012).



Fuente: Mantilla (2012)

2.2.1.5. Pretratamientos de los materiales lignocelulósicos

A los materiales lignocelulósicos se les puede tratar utilizando diferentes tecnologías, mediante pretratamientos físicos, químicos, biológicos y físico químicos, que son clasificaciones según la naturaleza como se detalla en la Tabla 3.

Tabla 3. Pretratamientos de los Materiales Lignocelulósicos

Naturaleza	Método	Procedimiento	Observaciones
Físico	Pulverizado mecánico	Reducción a astillas, molienda y/o trituración	Se realiza en residuos de madera, desechos de caña y otros materiales muy fibrosos.
	Agua líquida caliente	Agua caliente presurizada	Se da cierta despolimerización de la celulosa, y se hidroliza el 90% aproximadamente de la hemicelulosa
	Tratamiento con amoníaco	Por cada kg de biomasa seca se añade 1 a 2 kg de amoníaco por 30 min a 90°C	Se requiere la recuperación del amoníaco, no se producen inhibidores. Para material con alto contenido de lignina no es eficiente.
Químico	Explosión con CO ₂	Por cada kg de biomasa seca se añade 4 kg CO ₂ a 5 kPa	Conversión de la celulosa. No forma compuestos inhibidores.
	Hidrólisis con ácido diluido	Se utiliza H ₂ SO ₄ o HCl del 1 al 5% a 200°C	Altas conversiones de hemicelulosa a xilosa. La temperatura es favorable para la degradación de la celulosa. La lignina no se solubiliza.
	Hidrólisis alcalina	Se utiliza NaOH diluido con una relación de 20:1, en concentraciones de 0.124 a 0.24 M a 70°C por 1 hora aproximadamente	Existe una solubilización del 70 al 80% de la lignina, se puede dar degradación de la celulosa.

Tabla 3. Pretratamientos de los Materiales Lignocelulósicos (continuación)

Biológico	Degradación de lignina	Utilizando hongos o bacterias por tiempos prolongados se degrada se degrada la lignocelulosa	Proceso lento, aunque tiene altos rendimientos y produce pocos compuestos tóxicos.
Físico-químico	Deslignificación oxidativa	Peroxidasas y H ₂ O ₂ a 20°C por 8 horas	Solubiliza aproximadamente el 50% de la lignina y casi la totalidad de la hemicelulosa.
	Explosión a vapor	Vapor saturado desde 160 a 260°C, y presión de 450 kPa por varios minutos	Disminuye inhibidores, mejora la eficiencia de la posterior hidrólisis.

Fuente: Autor (2021)

Los pretratamientos que se realiza a los materiales lignocelulósicos pueden generar productos tóxicos, debido a la degradación de la lignina y de los azúcares (Mantilla, 2012).

2.3 Hongos

Los hongos son considerados los mejores degradadores de materiales lignocelulósicos, ya que presentan la capacidad de sintetizar enzimas extracelulares hidrofílicas y oxidativas en altas cantidades. *Trichoderma* sp., *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. y *Phanerochaete* son cepas modelo que presentan gran eficiencia degradadora de materiales ricos en lignocelulosa (Montoya *et al.*, 2014).

El Reino Fungi forma parte de uno de los tres reinos de la naturaleza, en la cual se consideran dentro de ellos, los hongos. Los hongos se componen de varios organismos que poseen una extensa distribución en la naturaleza, los cuales contribuyen a la descomposición de la materia orgánica y forma parte de los ciclos biológicos (Aguirre *et al.*, 2014).

2.3.1 Hongos del Género Trichoderma

Son los más estudiado a escala preindustrial para la degradación de celulosa nativa y cristalina mediante su complejo celulolítico, que presenta las tres actividades necesarias para la hidrólisis de la celulosa, muestran estabilidad en reactores agitados bajo condiciones de pH ácido y a 50°C durante 48 horas (Argumedo-Delira *et al.*, 2009).

Las especies de *Trichoderma* sp. han sido investigadas como agentes de control biológico por más de 70 años, ya que pueden colonizar sustratos rápidamente, promover el crecimiento vegetal además de poseen una actividad antagónica contra hongos patógenos, pero solo recientemente se han comercializado; esto es resultado del cambio en la actitud del público hacia el uso de compuesto químicos en los cultivos (Martínez *et al.*, 2013).

2.3.1.1 Hábitats y Requerimiento Edafoclimáticos

Las especies de *Trichoderma* sp. se encuentran especialmente en suelos y están influenciadas por condiciones ambientales y edafológicas como se presentan a continuación:

- Temperatura de crecimiento óptimo: es de 25 °C, aunque el rango de crecimiento puede variar entre 15 y 35°C, pero existen otras especies que pueden llegar a tolerar hasta los 41°C como lo son la *Trichoderma pseudokoningii* y *Trichoderma saturnisporum* (Méndez & Reyes, 2010).
- Humedad: está entorno al 70% de la capacidad de retención hídrica, es capaz de crecer entre el 20-80%.
- pH: es importante para manipular tanto el crecimiento, como la esporulación y la mayor longevidad, se obtiene en un medio con pH de 6.0 y permanecen viables las esporas un período de 45 días en almacén. Bajo condiciones de campo requiere humedad relativa alta para sobrevivir más tiempo (Arzate *et al.*, 2006).

- Salinidad: Se puede presentar o no crecimiento al ser expuesto a determinadas concentraciones de sales, así como a CaCl_2 , debido a que en concentraciones mayores a 80 g/L inhibe el crecimiento, 60 g/L tiene un desarrollo mínimo y a 10 g/L puede desarrollarse de manera óptima. Frente a sales como a NaCl y KCl es difícil su crecimiento, ya que los iones Na y K inhiben su esporulación disminuyendo la presión osmótica de la célula lo que conlleva a la disminución de la esporulación (Arzate *et al.*, 2006).

De acuerdo a las condiciones edafoclimáticas, el género *Trichoderma* presenta las siguientes características:

- Un color blanco en un inicio, luego se tornan a verde oscuro o amarillento, con esporulación densa.
- El micelio visto al microscopio es fino.
- Los conidióforos son ramificados, los mismos se presentan en forma de anillos con un sistema de ramas irregular de manera piramidal como se observa en la Figura 8, estos terminan en fiálides donde se forman las esporas asexuales o conidios, de gran importancia para la identificación taxonómica a nivel de especies. Los conidios aseguran las generaciones del hongo durante gran parte del período vegetativo de las plantas (Infante *et al.*, 2009).

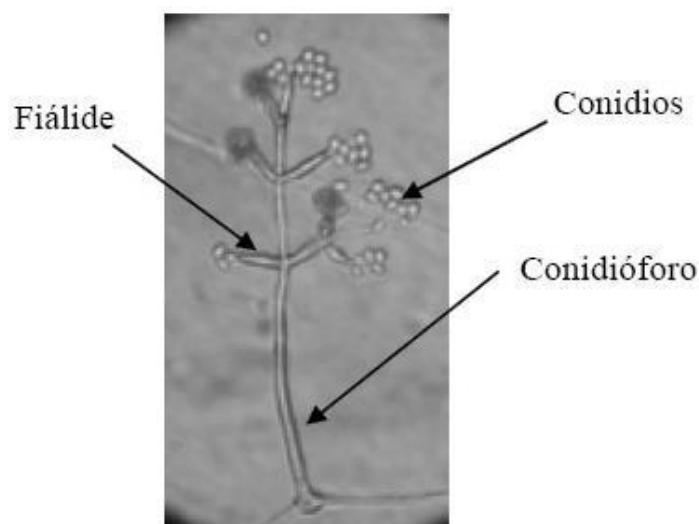


Figura 8. Conidios y Conidióforos de *Trichoderma* sp.

Fuente: Infante et al. (2009)

2.3.2 Hongos del Género *Aspergillus*

El género *Aspergillus* es considerado como un microhongo, el cual pertenece al género-forma *Aspergillus*, especie *terreus* y variedad Thom. Dentro de las divisiones posibles, el género *Aspergillus* se ha encuadrado en dos de ellas, la clase *Ascomycota* y la clase *Deuteromycota*, las especies pertenecientes a la clase *Deuteromycota* se destacan por no tener reproducción sexual. Tal como se observa en la Tabla 4 el género *Aspergillus* sp. pertenece al Reino de los hongos de la división *Ascomycota* y *Deuteromycota* (Casas, 2005).

Tabla 4. Reino de los Hongos

División	Nombre común	Número aproximado de especies	Géneros o grupos representativos
Zygomycota	Zigomicetos	600	<i>Rhizopus</i> , <i>Rhizomucor</i> , <i>Mucor</i>
Ascomycota	Hongos en saco	35.000	<i>Neurospora</i> , <i>Claviceps</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium</i> , <i>levaduras</i>

Tabla 4. Reino de los Hongos (continuación)

Basidiomycota	Hongos en maza	30.000	<i>Agaricus,</i> <i>Phanerochaete,</i> <i>Lycoperdon</i>
Deuteromycota	Hongos imperfectos	30.000	<i>Aspergillus,</i> <i>Penicillium,</i> <i>Fusarium,</i> <i>Cephalosporium</i>

Fuente: Casas (2005)

El género *Aspergillus* fue descrito por primera vez por Micheli en 1729, que lo denominó con este nombre por el parecido de la cabeza conidial con un “aspergillum” (instrumento religioso utilizado para dispersar agua bendita), son microhongos filamentosos hialinos, de los que conocemos unas 900 especies (Casas, 2005).

Este género comprende unas doscientas especies con gran cantidad de variedades, tienen una distribución amplia en la naturaleza y se encuentran en todo el mundo. Parece adaptarse a un amplio espectro de condiciones ambientales y poseen conidios resistentes a la variación de la temperatura, lo cual le proporcionan un buen mecanismo para su dispersión (Araujo *et al.*, 2016).

Las especies del género *Aspergillus* se encuentran en la naturaleza con una alta distribución pudiéndose aislar de una gran variedad de sustratos. Gracias a la facilidad de dispersión de sus conidios y a su pequeño tamaño, estos pueden permanecer en suspensión en el ambiente durante un largo periodo de tiempo. Estas especies fúngicas presentan un crecimiento exponencial, se definen con base en las diferencias de la estructura del conidióforo y la disposición de los conidios, tales como el color, la forma y textura de las esporas, lo que han permitido agruparlos en secciones o grupos (Araujo *et al.*, 2016). Se encuentran ampliamente distribuidas por todas las latitudes y se presentan en diversos ambientes, especialmente en desechos vegetales en descomposición es decir están presentes en toda materia orgánica (Martínez *et al.*, 2013). A nivel mundial existen varios tipos de especies de este hongo como son: *Trichoderma piluliferum*,

Trichoderma polysporum, *Trichoderma hamatum*, *Trichoderma koningii*, *Trichoderma aureoviride*, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma longibrachiatum*, *Trichoderma pseudokoningii* y *Trichoderma viride*, cada especie tiene diferencias morfológicas y fisiológicas en la Figura 9 se observa la estructura de la especie *Aspergillus niger* (Martínez *et al.*, 2013).

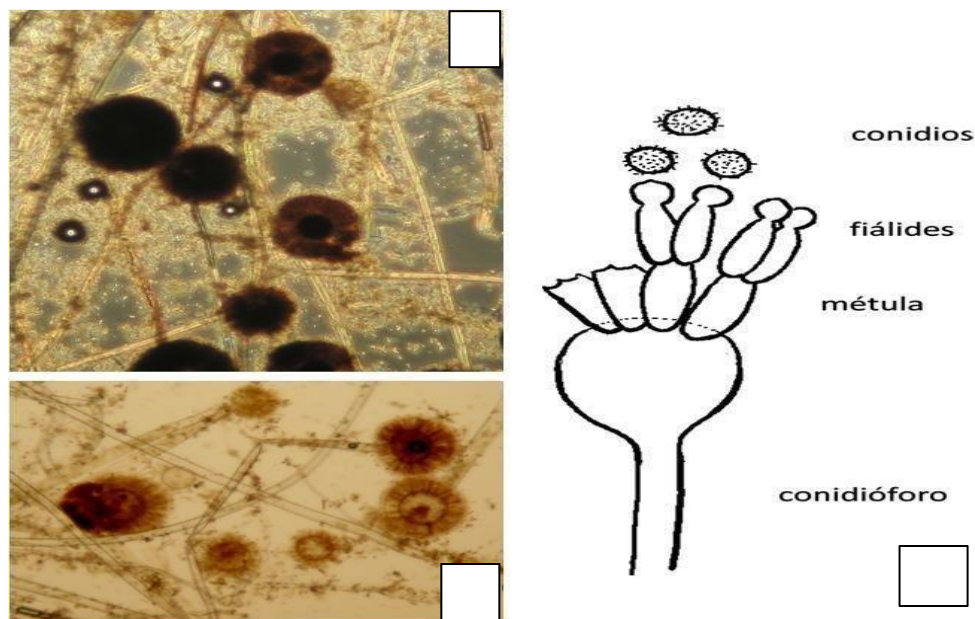


Figura 9. *Aspergillus niger*

Fuente: Patino (2011)

2.3.2.1 Impacto del Hongo *Aspergillus* sp. en la Salud

Las especies de *Aspergillus* son contaminantes medioambientales muy frecuentes, algunas especies pueden producir diversas patologías (aspergilosis) en el ser humano (otomicosis, queratitis, síndromes tóxicos, colonización en cavidades orgánicas y tejidos, diseminaciones sistémicas, etc.), se comportan como patógenos oportunistas en pacientes inmunocomprometidos: VIH, trasplantados, pacientes oncológicos, entre otros (Casas, 2005).

El contacto directo entre el humano y el hongo provoca alteraciones pulmonares. Esta enfermedad aparece con más frecuencia en agricultores, ya que inhalan el polvo del hongo con más facilidad (Sánchez-Saldaña *et al.*, 2010). Los síntomas principales al

contraer *Aspergillus* pueden ser: dolor torácico, expectoración con sangre (se observa hasta en un 75% de los pacientes), fiebre, insuficiencia respiratoria, pérdida de peso, sibilancias, tos seca (Torres, 1991)

El *Aspergillus* es un hongo ampliamente difundido en la naturaleza que se desarrolla en vegetales en descomposición, granos de cereal, heno, tejidos de algodón, lana y plumas. Su medio ideal son los ambientes oscuros, húmedos y cerrados. Podemos encontrar esporas de *Aspergillus* en los depósitos de trigo, en los edificios en construcción, en los aparatos de aire acondicionado y en los alimentos enmohecidos (Vásquez, 2008).

2.4 Enzimas

Las enzimas son catalizadores que ayudan a las reacciones químicas de los seres vivos para que puedan desarrollarse a un ritmo adecuado. Son considerados como el grupo más variado y especializado de las proteínas (Pérez & Noriega, 2002). Muchas de las enzimas trabajan en secuencias, conocidas como rutas metabólicas, y algunas de ellas poseen gran capacidad de regular su actividad enzimática. Existen rutas metabólicas formadas por grupos de enzimas que actúan simultáneamente en el metabolismo celular (Franco, 2007).

2.4.1 Actividad Enzimática

Las enzimas para una debida actividad enzimática requieren de cofactores como determinados iones minerales (magnesio, zinc, cobre, etc.). La actividad enzimática se encuentra limitada por diversos factores, como puede ser la temperatura, pH y concentración. La velocidad de la reacción está relacionada directamente con la concentración de la enzima y esta velocidad es diferente para cada una (Cremonesi, 2002).

CAPÍTULO III. METODOLOGÍA

3.1. Revisión bibliográfica

La revisión bibliográfica se basó en una secuencia ordenada y detallada de información relevante de investigaciones científicas que garantizó que el trabajo pueda tener información de calidad.

3.2. Revisión científica

Se realizó una búsqueda bibliográfica organizada para analizar la información mediante la identificación de los autores principales y sus áreas de trabajo, así como en publicaciones reconocidas que han sido evaluadas por expertos antes de ser publicados y de esta forma se obtuvo información detallada y relevante.

3.3. Revisión sistemática

La información se obtuvo de artículos científicos, reportes técnicos, libros, revistas y tesis relacionados con el tema, este material se obtuvo a través de bibliotecas digitales como Google académico, repositorios de tesis universitarios, libros digitales y revistas de alto impacto de los rankings Scopus y Web of Science que permitieron recolectar, seleccionar y analizar resultados coherentes.

3.4. Técnica comparativa

La presente investigación es de tipo bibliográfica o conocida también como documental donde se basó principalmente en la comparación de información obtenida de distintas fuentes, la cual se desarrollará en función de datos secundarios que han sido obtenidos por otros investigadores.

Para seleccionar la información se consideró el criterio de pertinencia, ya que las fuentes consultadas debían ser acorde con los objetivos planteados para fundamentar la

investigación, tomando en cuenta áreas como: ambiente, biotecnología y microbiología, además se aplicó el criterio de actualidad, esto implica que las fuentes consultadas debían ser lo suficientemente actuales como para asegurar que reflejen los últimos avances, para esto se consideró información a partir del año 2010 hasta la actualidad. Los fundamentos teóricos basados en libros digitales se consideraron a partir del año 1995.

Para esta investigación bibliográfica se realizaron las siguientes actividades:

- Conocer y explorar todas las fuentes que puedan ser útiles sobre la degradación de los hongos *Trichoderma* sp. y *Aspergillus* sp. en el bagazo de caña de azúcar.
- Leer todas las fuentes disponibles de modo discriminatorio, destacando los aspectos esenciales.
- Proceder a la recolección de los datos.
- Cotejar los datos obtenidos observando las coincidencias o discrepancias y evaluando su confiabilidad.

3.5. Método Cualitativo

Se realizó un análisis de tipo cualitativo para conocer el comportamiento degradativo de los hongos *Trichoderma* sp. y *Aspergillus* sp. con respecto a su producción de enzimas y a la vez la composición de los residuos de bagazo de la caña de azúcar a medida que se van descomponiendo.

3.6. Método Cuantitativo

Se aplicó un análisis cuantitativo, de los datos de estudios experimentales obtenidos de la revisión bibliográfica, de la cual se identificó la velocidad degradativa del bagazo de la caña de azúcar, y el crecimiento de los hongos, también el tiempo de degradación, mediante la cinética de crecimiento de los hongos (Hernández *et al.*, 2014).

La medición de la velocidad de crecimiento de hongos filamentosos puede ser determinado mediante varios métodos como son: determinación en peso seco, determinación de actividad metabólica mediante la medición de algún componente producido en el medio, estimación visual del crecimiento y medición radial de colonias, generalmente se mide en milímetros.

Por lo general se utiliza Papa-Dextrosa-Agar que es un medio de cultivo que sirve para el aislamiento, enumeración y cultivo de todo tipo de hongos. Para el crecimiento de los hongos se deben considerar algunos factores ambientales como la temperatura, el pH, el oxígeno, la luz, la humedad, los nutrientes del material, entre otros.

Para conocer la capacidad descomponedora en bagazo de caña de azúcar de los dos géneros de hongos se inocula individualmente los hongos cada uno en un sustrato sólido formado principalmente por residuos de caña de azúcar, después de cierto tiempo se le adiciona una solución mineral para extraer todas las enzimas celulolíticas producidas por la degradación de los hongos, las enzimas extraídas se someten a una prueba donde se cuantifica la glucosa producida al degradarse carboximetilcelulosa.

También los estudios analizados se realizaron con técnicas de fermentación en estado sólido (SSF) que es un proceso realizado en un sustrato sólido y húmedo, pero en ausencia de agua, y, fermentación sumergida (FS) que producen los microorganismos en un medio de cultivo líquido.

3.7 Población

Las especies que se utilizó para la investigación fueron los géneros *Aspergillus* y sp. *Trichoderma* sp. pertenecientes al Reino Fungi.

3.8 Muestra

Para la muestra del siguiente estudio se utilizaron 5 especies de hongos que pertenecen a los géneros *Aspergillus* y *Trichoderma* los cuales fueron: *Trichoderma longibrachiatum*, *Trichoderma resei*, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma viride*, y *Aspergillus niger* encontrados en el bagazo de la caña de azúcar, generado como desecho de algunos procesos industriales, especialmente de la extracción del jugo para elaboración de azúcar, este residuo agroindustrial se genera tanto a nivel nacional como internacional.

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se toma como base los hongos de los géneros *Trichoderma* sp. y *Aspergillus* sp., para evaluar de manera bibliográfica la capacidad degradadora que presentan sobre los residuos de bagazo de caña de azúcar, el crecimiento de estos géneros es favorecido por su bajo contenido de cenizas, ya que posee una alta tasa de producción de celulasa, estos hongos tienen la facilidad de hidrolizar la celulosa presente en el bagazo de la caña de azúcar mediante un complejo sistema de enzimas (Ovando-Chacón & Waliszewski, 2005).

4.1 Composición Química del Bagazo de la Caña de Azúcar

El bagazo de caña de azúcar es una fibra natural considerado como un material lignocelulósico, presenta una diversa composición química la cual se puede visualizar en la Tabla 5 según varios autores.

Tabla 5. Constituyentes Estructurales del Bagazo de Caña de Azúcar

Autor/es	Celulosa (%)	Lignina (%)	Hemicelulosa (%)	Cenizas (%)	Otros (%)
Drummond, 1996	40.0 – 50.0	20.0 – 25.0	20.0 – 30.0	1.5-5	0.7-3.5 (Sílíce)
Ojumu <i>et al</i> , 2003	38.7	21.7	23.4	3.5	2 (Proteína) 7.5 (Extractivos)
Lemus <i>et al</i> , 2013	30.6	14.3	27.0	3.66	3.78 (Extractivos)
Roque-Díaz <i>et al</i> , 1985	50.0	25.0	24.0	1.3	29.4 (Extraíbles)

Fuente: Autor (2021)

Los constituyentes estructurales del bagazo de caña de azúcar que se muestran en la tabla 5, no varían notablemente entre los estudios analizados, a pesar de que fueron realizados en diferentes años. La celulosa es una biomolécula orgánica que forma parte de la biomasa del material vegetal (Drummond, 1996), en los materiales lignocelulósicos

representa el componente mayoritario al encontrarse en valores del 30.6 al 50%. La hemicelulosa que engloba otros polisacáridos de cadenas más cortas como las pentosas, hexosas y ácidos hexurónicos (Ojumu *et al.*, 2003), forma parte del bagazo de caña de azúcar entre un 20 y 30%, representando el segundo constituyente estructural más importante según se muestra en los estudios analizados. La lignina es un polisacárido que asegura la protección contra agentes atmosféricos y contra la humedad (Lemus *et al.*, 2013), este se encuentra presente entre un 14.3 a un 25%, siendo el tercer componente mayoritario del bagazo de caña de azúcar. La cantidad de cenizas presente varía entre 1.3 y 5% siendo el cuarto componente del residuo lignocelulósico. Otros constituyentes como sílice y proteínas se presentan en menor cantidad. El bagazo de caña de azúcar por sus constituyentes es muy rico en glucosa lo que facilita la descomposición del mismo por la presencia de hongos (Roque-Díaz, 1985).

4.2 Enzimas producidas por hongos en bagazo de caña de azúcar

Existen varios tipos de hongos y microorganismos que producen diferentes enzimas en biomasa de bagazo de caña de azúcar, las cuales se presentan en la Tabla 6:

Tabla 6. Tipos de Enzimas Producidas por Hongos en Bagazo de Caña de Azúcar

Género	Especie	División	Enzimas	Referencia
<i>Aspergillus</i>	<i>Aspergillus niger</i>	Ascomycota	Xilanasas, β-glucosidasa, Celulasas	(Márquez <i>et al.</i> , 2007)
<i>Trichoderma</i>	<i>Trichoderma reesei</i>	Ascomycota	exoglucosidasa endoglucosidasa	(De la Cruz <i>et al.</i> , 2016)

Fuente: Autor (2021)

En la tabla 6 se evidencia que el *Aspergillus* y el *Trichoderma*, hongos que se encuentran presentes en el bagazo de caña de azúcar, producen distintos tipos de enzimas. En el caso del *Aspergillus niger* sintetizan las enzimas Xilanasas, β-glucosidasas y Celulasas, las

mismas que ayudan a la ruptura del material vegetal (hemicelulosa) (Márquez *et al.*, 2007). Por otro lado, la especie *Trichoderma reesei* producen enzimas exoglucosidasas y endoglucosidasas, las cuales se encargan de romper los enlaces glucosídicos en el residuo terminal del bagazo (De la Cruz *et al.*, 2016).

4.3 Velocidad de Crecimiento de los Hongos *Trichoderma* sp. y *Aspergillus* sp.

El bagazo de caña de azúcar constituye una alternativa de fuente de carbono, lo que favorece al crecimiento microbiano de la especie *Aspergillus niger*, que fue evidenciado en un biorreactor aireado, en el cual se inocularon 50 mL de este hongo en agar celulosa. Este proceso se llevó a cabo a una temperatura de 23-25°C durante 20 días. A partir del segundo día de incubación se produjo celulasas con una actividad enzimática de 0.005 UE/mL, después de transcurridos 20 días de incubación de obtuvo una producción final de 0.025 UE/mL con un pH 6.0, con tendencia lineal de incrementar su concentración en función del tiempo como se observa en el Anexo A. Para la medición de la actividad enzimática se utilizó el método de glucosa enzimática (Llenque *et al.*, 2015).

Utilizando la caña de azúcar seca como única fuente de carbono con 4% de humedad, enriquecido con 0.1% de sulfato de amonio, 0.5% de sulfato de magnesio y 0.1% de bifosfato de potasio y solución salina fisiológica al 9%, se inoculó un 1 mL de solución que contenía el hongos *Aspergillus niger* en una solución de agar-agar al 2%, 4% y 6% a 25°C durante 5 días, y mediante el Kit Wiener Glycemia HK-UV^R miden la actividad enzimática alcanzando un valor máximo de 0.3 UI/mL en la solución de agar-agar al 2% a los 3 días de incubación, presentando condiciones favorables para su crecimiento como se muestra en el Anexo B (Llenque *et al.*, 2015).

Moreno (2013) indica que para realizar el debido procedimiento “aísle y seleccione hongos a partir del bagazo de caña de azúcar, los cultivos fueron sembrados

en superficie en placas en medio agar carboximetilcelulosa 1% a 35°C durante 48 horas”, en la cual se forma un halo de hidrólisis alrededor de la colonia por degradación del sustrato, en una selección primaria utiliza rojo de Congo como revelador, mientras que en una selección secundaria lo realiza en cultivo sumergido (sistema de fermentación en tubos de ensayo) con los microorganismos obtenidos en la primera selección, a partir de cultivos puros reactivados y cosechados en solución salina fisiológica estéril. Mediante la técnica de glucosa enzimática la actividad catalítica de las celulasas es medida, obteniendo del *Trichoderma* sp. 0.013 UE/mL y 35 ug/uL de glucosa, mientras que en el caso del *Aspergillus* sp. 0.008 UE/mL y 22.5 ug/uL de glucosa.

Acevedo *et al.* (2014) señalan en su investigación que para la producción de glucosa en el bagazo de caña de azúcar triturado en partículas menores de 2.4 mm, se utilizó *Trichoderma longibrachiatum*, este hongo fue inoculado en la biomasa a 40°C y a pH de 6 manteniendo agitación constante durante 5h, en cuanto a las concentraciones de sustrato inicial fueron de 30, 40 y 50 mg/mL, con dosificaciones de enzimas de celulasa ácida de 0.210, 0.420 y 0.840 mL respectivamente, estos valores fueron establecidos mediante la cinética de velocidad de Michaelis-Mentel, se obtuvo una mayor concentración de glucosa (0.1902 mg/mL), con una concentración de sustrato inicial de 50 mg/mL con la adición de 0.840 mL de enzimas de celulasa ácida, estas condiciones alcanzaron una velocidad de conversión del sustrato de 0.1176 mg/mL.s (Anexo C). Determinando que al aumentar la concentración del sustrato también la concentración de glucosa aumenta.

Bofill Rodríguez *et al.* (2009) en su estudio indican que el bagazo de caña de azúcar se utiliza como un medio para producir enzimas celulolíticas mediante técnicas de fermentación en estado sólido (SSF) y fermentación sumergida (FS) determinando que los hongos con mejor capacidad degradadora de celulosa en un tiempo de 120 h a 28°C

fueron *Trichoderma reesei* ya que presentaron una actividad celulolítica de 0.59 UI/mL a diferencia de *Trichoderma harzianum* quien obtuvo aproximadamente un tercio de la actividad enzimática con 0.21 UI/mL de producción de celulasas.

De la Cruz *et al.* (2016) utilizaron las cepas EP-415 (*Trichoderma* sp) y EC-623 (*Aspergillus niger*) quienes fueron inoculadas en un sustrato de bagazo de caña de azúcar previo tratamiento de hidrólisis básica con NaOH al 3%, la fermentación se realizó en estado sólido tal como se muestra en el Anexo D. La cinética de la actividad celulolítica exo β 1-4 glucanasa se determinó mediante el ensayo de papel filtro, al medir la actividad enzimática, se obtuvo los mejores resultados a las 72 horas a 50°C con *Aspergillus niger* cuyo valor fue de 0.27 UI/mL y mientras que en el caso de *Trichoderma viride* fue de 0.17 UI/mL. La productividad de la expresión de la actividad enzimática celulolítica de la cepa *Aspergillus niger* se obtuvo a las 48 horas alcanzando un valor de 0.0052 UI/mL.h; mientras que de la cepa *Trichoderma* sp a las 24 horas se obtuvo 0.005 UI/mL.h.

Méndez-Matías *et al.* (2018) inocularon *Trichoderma harzianum* y *Aspergillus* sp. en el bagazo de caña de azúcar para realizar un proceso de compostaje, modificando la relación C/N con estiércol de bovino 5:1 v/v para reducir la relación C/N a 50,6% y esto ayudó a facilitar la degradación del residuo lignocelulósico. Los hongos fueron aislados en medio de cultivo PDA, experimento que duró 133 días. Se analizaron los parámetros de Materia Orgánica (MO), Carbono orgánico total (COT) y Relación C/N, que determinan el grado de degradación de los residuos lignocelulósicos.

Los datos obtenidos de RC/N, MO y COT para el *Trichoderma* sp. son 39.7%, 79.52% y 44.18% respectivamente y para el *Aspergillus* sp. 39.3%, 71.40% y 39.44% respectivamente (Méndez-Matías *et al.*, 2018). La relación de C/N para *Trichoderma harzianum* y para el *Aspergillus* sp., presentan una variación significativa mientras que los resultados de la MO y COT demuestran que el *Aspergillus* sp. actuó con mayor grado

de degradación en el bagazo de la caña de azúcar, ya que al inocular estiércol de bovino esto favoreció a las condiciones de crecimiento y reproducción de la misma.

En la Tabla 7 se presenta un resumen comparativo de la actividad enzimática de los hongos *Trichoderma* sp. y *Aspergillus* sp. en la degradación del bagazo de la caña de azúcar con relación a la temperatura, determinado por varios autores.

Hay varias especies de los géneros *Aspergillus* y *Trichoderma* que presentan enzimas celulasas en la descomposición del bagazo de la caña de azúcar como se observa en la Tabla 7, estas enzimas al ser catalizadores biológicos aceleran la velocidad de degradación, un parámetro muy importante dentro de la actividad enzimática es la temperatura, la misma que oscila entre 25-50°C que son las temperaturas óptimas para alcanzar la máxima actividad enzimática en cada uno de los procesos realizados con diferentes condiciones de cultivo y de sustratos.

Tabla 7. Comparación de la Actividad Enzimática de los Hongos *Trichoderma* sp. y *Aspergillus* sp. en la Degradación del Bagazo de la Caña de Azúcar en Relación de la Temperatura

Género	Especie	Enzimas	Temperatura (°C)	Actividad enzimática	Referencia
<i>Aspergillus</i>	<i>Aspergillus niger</i>	Celulasas	23-25	0.025UE/mL	(Llenque <i>et al.</i> , 2015)
<i>Aspergillus</i>	<i>Aspergillus niger</i>	Celulasas	25	0.3 UI/mL	(Llenque <i>et al.</i> , 2015)
<i>Aspergillus</i>	<i>Aspergillus niger</i>	Celulasas	35	0.008 UE/mL	(Moreno Ruiz, 2013)
<i>Trichoderma</i>	<i>Trichoderma</i> sp		35	0.013 UE/mL	(Moreno Ruiz, 2013)
<i>Trichoderma</i>	<i>Trichoderma reesei</i>	Celulasas	28	0.59 UI/mL	(Bofill Rodríguez <i>et al.</i> , 2009)
	<i>Trichoderma harzianum</i>		28	0.21 UI/mg	(Bofill Rodríguez <i>et al.</i> , 2009)
<i>Aspergillus</i>	<i>Aspergillus niger</i>	exo β 1-4glucanasa	50	0.27 UI/mL	(De la Cruz <i>et al.</i> , 2016)
<i>Trichoderma</i>	<i>Trichoderma viride</i>		50	0.17 UI/mL	(De la Cruz <i>et al.</i> , 2016)

Fuente: Autor (2021)

Las actividades enzimáticas se pueden expresar mediante las siguientes unidades:

- (UI) Unidades Internacionales por mL, considerando una unidad como la cantidad de enzima que libera un micromol de glucosa por minuto.
- (UE) Unidad enzimática de celulasa, considerado como la cantidad de enzima necesaria para liberar una micromol de glucosa por minuto.

En la figura 10 se muestra el comportamiento de cada especie de estudio en función de la temperatura y actividad enzimática. *Trichoderma reesei* presentó una mayor actividad enzimática alcanzando valores de 0.59 UI/mL a una temperatura de 28°C, mientras que el *Aspergillus niger* alcanzó un valor mínimo de 0.008 UE/mL de actividad enzimática a una temperatura de 35°C.

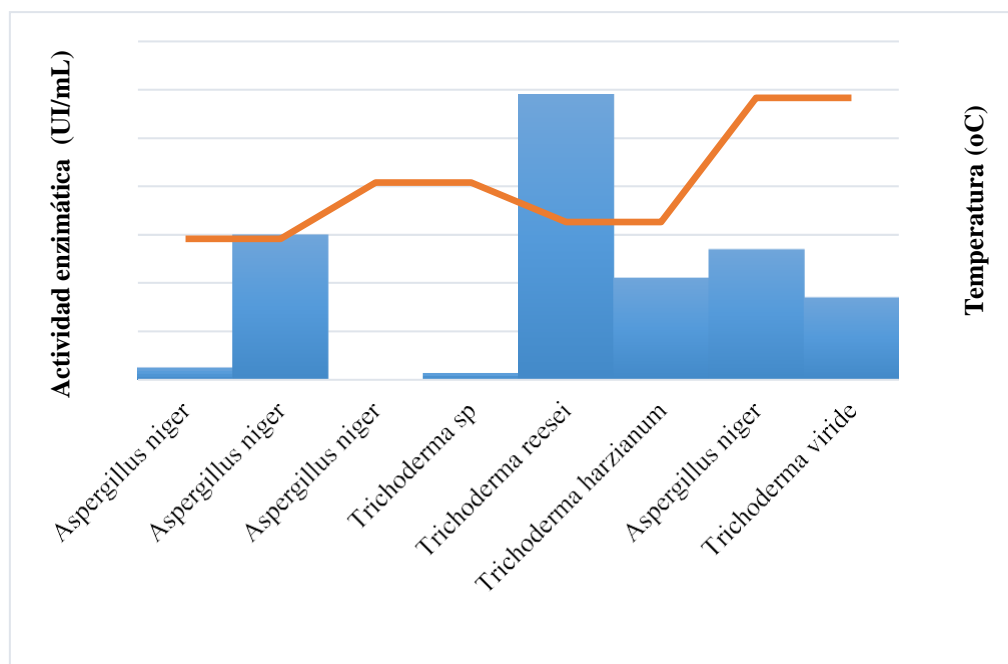


Figura 10. Relación Especie vs. Actividad Enzimática y Temperatura

Fuente: Autor (2021)

El tiempo de descomposición del bagazo de caña de azúcar está relacionado con la velocidad de actividad enzimática, en la Tabla 8 se muestran los estudios analizados señalando la mayor velocidad alcanzada en función del tiempo de las diferentes especies de hongos.

Tabla 8. Tiempos de Descomposición del Bagazo de Caña de Azúcar y Velocidades de Actividad Enzimática

Especie	Tiempo de Descomposición (h)	Velocidad de actividad enzimática	Observaciones	Referencia
<i>Trichoderma longibrachiatum</i>	5	0.1176 mg/mL.s	La velocidad de actividad enzimática alcanza el valor más elevado cuando la concentración de bagazo es mayor.	(Acevedo <i>et al.</i> , 2014)
<i>Trichoderma reesei</i>	120	0.0698 UI/mLh	La máxima velocidad enzimática varía de forma exponencial con el tiempo	(Bofill Rodríguez <i>et al.</i> , 2009)
<i>Aspergillus niger</i>	48	0.0052 UI/mL.h	En tiempos de estudio de 24, 48 y 72 horas <i>Aspergillus niger</i> alcanza la mayor productividad enzimática a las 48 h, mientras que <i>Trichoderma viride</i> en el menor tiempo (24 h) por las condiciones de crecimiento de cada uno de los hongos. Los hongos a las 72 h disminuyen notablemente la productividad.	(De la Cruz <i>et al.</i> , 2016)
<i>Trichoderma viride</i>	24	0.0050 UI/mL.h		(De la Cruz <i>et al.</i> , 2016)

Fuente: Autor (2021)

En los estudios analizados de Moreno (2013) y De la Cruz *et al.* (2016), se pudo evidenciar que los hongos *Trichoderma* sp. y *Aspergillus* sp. trabajan bajo las mismas condiciones de cultivo y tratamiento sobre el bagazo de caña de azúcar. De los mismos estudios, se observa que las dos especies poseen gran capacidad degradadora para descomponer el bagazo de caña por su alta producción de celulasas generando glucosa. Al trabajar en medio de agar carboximetilcelulosa al 1%, el hongo *Trichoderma* sp., es el que genera mayor actividad enzimática en comparación con el *Aspergillus* sp.

De acuerdo con De la Cruz *et al.* (2016), se demuestra que *Aspergillus niger* mediante hidrólisis básica genera mayor productividad enzimática en un tiempo de 48 horas, en comparación con *Trichoderma viride* el cual produce menor cantidad de enzimas, aunque su velocidad máxima de producción fue a las 24 horas. Estas especies al ser sometidas a tiempos mayores de producción, manifiesta una disminución notablemente en la productividad de enzimas.

A pesar de los datos obtenidos de las diferentes especies que son aptas para descomponer el bagazo de la caña de azúcar por la capacidad de producción de enzimas celulasas que presentan, no se pudo establecer cuál es la especie en generar mayor producción enzimática y degradar de mejor manera el bagazo de la caña de azúcar, ya que cada una es estudiada a diferentes parámetros de crecimiento y técnicas de producción de enzimas, por cuanto en cada especie se utilizan metodologías propias para cada experimento, determinadas por los autores de manera independiente.

CONCLUSIONES

- Mediante estudios bibliográficos analizados se determinó que la velocidad de descomposición del bagazo de caña de azúcar por parte de los hongos *Trichoderma* sp. y *Aspergillus* sp. son variados ya que van desde las 24 horas hasta los 20 días, al presentar diferentes parámetros de crecimiento (temperatura, pH, tiempo de incubación de los hongos) y actividades enzimáticas distintas.
- De acuerdo a los estudios e investigaciones analizados se ha encontrado que tanto *Trichoderma* sp. como *Aspergillus* sp. son buenos degradadores del bagazo de caña de azúcar en sus condiciones de crecimiento óptimas, estas al ser muy particulares de cada especie imposibilitan la determinación específica del género con mayor capacidad descomponedora.
- En este estudio se ha demostrado la capacidad de producción de enzimas por parte de *Trichoderma* sp. y *Aspergillus* sp., esta propiedad está estrechamente relacionada con la capacidad degradadora del bagazo de la caña de azúcar, ya que este al ser un residuo lignocelulósico necesita de enzimas como la celulasa para catalizar la transformación del sustrato.
- Mientras mayor sea la producción de enzimas, se presenta una mayor descomposición del bagazo de caña de azúcar, ya que los hongos *Trichoderma* sp. y *Aspergillus* sp. al producir enzimas celulolíticas tienen la capacidad de descomponer la lignina y hemicelulosa, permitiendo la producción de glucosa.

RECOMENDACIONES

- Realizar estudios experimentales utilizando diferentes especies de hongos *Aspergillus*, ya que no se cuenta con información suficiente para conocer el comportamiento de este género en la degradación del bagazo de la caña de azúcar.
- Aprovechar a nivel industrial la producción de enzimas generadas por los hongos ya que los costos de obtención son bajos.
- Fomentar el uso del bagazo de caña de azúcar descompuesto generado como alimentos para animales o abonos orgánicos en la agricultura.

BIBLIOGRAFÍA

- Acevedo, D., Granados, C., & Guerrero, E. M. (2014). Cinética enzimática del bagazo de caña para la producción de glucosa utilizando la enzima *Trichoderma longibrachiatum*. *Informacion Tecnologica*, 25(5), 65–72. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642014000500010>
- Ficha Técnica del cultivo de Caña de Azúcar*. (2015, 15 de enero). Comité Nacional para el Desarrollo Sustentable de la Caña de Azúcar. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/141823/Ficha_Tcnica_Ca_a_de_Az_car.pdf.
- Araujo, J., Yegres, F., Barreto, G., Antequera, Á., Depool, B., & Rojas, Y. (2016). Biocatalizadores fúngicos hidrocarbonoclasticos del género *Aspergillus* para la descontaminación de agua con Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos (HPAs). *Rev. Cubana Quím*, 28(2), 2224–5421. <http://ojs.uo.edu.cu/index.php/cq>
- Argumedo-Delira, R., Alarcón, A., Ferrera-Cerrato, R., & Peña-Cabriales, J. J. (2009). El Género Fúngico *Trichoderma* y Su Relación con Contaminantes Orgánicos e Inorgánicos. *Rev. Int. Contam. Ambient*, 25(4), 257–269.
- Artiles, L., Otero, J., & Barrios, I. (1998). *Metodología de la Investigación. Para las ciencias de la Salud*. ECIMED.
- Arzate, J., Michel, A., Domínguez, V., & Santos, O. (2006). Antagonismo de *Trichoderma* spp. sobre *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, Agente Causal de la Sigatoka Negra del Plátano (*Musa* sp.) in vitro e Invernadero. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 24(2), 98–104. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61224203>
- Badui, S. (2006). *Química de los alimentos* (Cuarta). Pearson Educación.
- Cremonesi, P. (2002). *L'uso degli enzimi nella pulitura di opere policrome*. Il Prato.
- Bofill Rodríguez, Y., Mesa Garriga, L., González Suárez, E., & Herrera Coello, N. (2009). Vigilancia Tecnológica de la obtención de enzimas celulolíticas para la obtención de etanol celulósico. *Centro Azúcar*, 36(3), 56–62. www.sciencedirect.com.
- Bucio, C., Luna, H., & Martínez, O. (2007). Efecto del Extracto de Estigmas de Maíz sobre *Aspergillus* spp. *Acta Universitaria*, 17(1), 59–62. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=41617106>
- Cabeza, R., Pinochet, D., & Valenzuela, E. (2002). *Biodegradacion de paja de trigo por cepas fungicas seleccionadas*. 17, 69–74.
- Casas, J. L. (2005). *Producción de lovastatina a partir de Aspergillus terreus en un reactor de lecho fluidizado*.
- Castillo, R., & Silva, E. (2004). Fisiología, floración y mejoramiento genético de la caña de azúcar en Ecuador. *CINCAE*, 3.
- Chen, J. (1991). *Manual del azúcar de caña para fabricantes de azúcar de caña y químicos especializados*. Limusa.
- Córsico, B., Falomir, L., Franchini, G. R., & Scaglia, N. (2013). *Análisis estructural y funcional de Macromoléculas* (Edulp). www.editorial.unlp.edu.ar
- Cortes, W. (2014). *Tratamientos Aplicables a Materiales Lignocelulósicos para la Obtención de Etanol y Productos Químicos*. Dialnet.

- Cruz, K., Dustet, J., Pére, L., & Anaya, M. (2016). Caracterización de enzimas celulasas de nuevas cepas fúngicas obtenidas a partir de bagazo de caña de azúcar. *Redalyc.Org*, 0138–6204, 9.
- Cuervo, L., Folch-Mallol, J. L., & Quiroz, E. (2009). Lignocelulosa Como Fuente de Azúcares Para la Producción de Etanol. *BioTecnología*, 13(3). <https://www.researchgate.net/publication/266610846>
- Cunningham, R., & López, G. (1994). *Etanol de lignocelulósicos: tecnología y perspectivas*. Cytel.
- De la Cruz, K., Dustet, J., Pérez, L., & Anaya, M. (2016). Caracterización de enzimas celulasas de nuevas cepas fúngicas obtenidas a partir de bagazo de caña de azúcar. *ICIDCA*, 50(2), 35–42. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223150958006>
- Díaz, R. (1996). *Caracterización Energética del Bagazo de Caña de Azúcar del Ingenio Valdez. Ecuador*.
- Drummond, A. (1996). Revisión de un artículo de investigación. *Revista Británica de Terapia Ocupacional*, 59(2).
- Fauconnier, R. (1975). *La caña de Azúcar: técnicas agrícolas y producciones tropicales*. BLUME.
- Franco, L. (2007). Enzimas: qué son y para qué sirven. *Revista Académica Científica*, 101(2), 399–417.
- Gómez-Luna, E., Fernando-Navas, D., Aponte-Mayor, G., & Betancourt-Buitrago, A. (2014). Metodología para la revisión bibliográfica y la gestión de información de temas científicos, a través de su estructuración y sistematización. *DYNA*, 81(184), 158–163. <http://dyna.medellin.unal.edu.co/>
- González, M. (2018). *Manejo de Desechos Sólidos en la Escuela Oficial Urbana Mixta 824 y 825, Ciudad Peronia, Villa Nueva, Guatemala*.
- Hernández Sampieri, R., Fernández, C., & Baptista, P. (2014). Definiciones de los enfoques cuantitativo y cualitativo sus similitudes y diferencias. In *Metodología de la Investigación* (Sexta). McGraw Hill Education.
- Infante, D., Martínez, B., González, N., & Reyes, Y. (2009). Mecanismos de acción de Trichoderma frente a Hongos Fitopatógenos. *Revista de Protección Vegetal*, 24(1). <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61224203>
- Lagos-Burbano, E., & Castro-Rincón, E. (2019). Sugar cane and by-products of the sugar agro-industry in ruminant feeding: A review. *Agronomy Mesoamerican*, 30(3), 917–934. <https://doi.org/10.15517/am.v30i3.34668>
- Lemus, N., Guevara, M., Lodeiros, C., Vásquez, A., Freitas, L., & Licet, B. (2013). Crecimiento y composición bioquímica de *Limnithrix* sp. a diferentes salinidades y concentraciones de nitrato. *Rev. Colomb. Biotecnol*, 15(1), 159–166.
- Llenque, L., Muñoz, M., Espejo, E., & Moreno, A. (2015). Producción de celulasas por *Aspergillus niger* a partir de bagazo de caña de azúcar en biorreactor aireado. *Ciencia y Tecnología*, 11(4), 39–49.
- Lu, Y., Lu, Y. C., Hu, H. Q., Xie, F. J., Wei, X. Y., & Fan, X. (2017). Structural characterization of lignin and its degradation products with spectroscopic methods. In

- Journal of Spectroscopy (Vol. 2017). Hindawi Limited.
<https://doi.org/10.1155/2017/8951658>
- Lynch, C. (2016). *Ingenio San Carlos*. www.sancarlos.com.ec:
<http://www.sancarlos.com.ec/portal/es/web/ingeniosancarlos/producto>
- Mantilla, M. (2012). *Hidrólisis ácida del bagazo de caña de azúcar y paja de trigo con una posterior fermentación alcohólica para obtención de etanol*.
- Márquez, T., Mendoza, D., Gonzales, S., Buntinx, S., & Looera, O. (2007). *Actividad fibrolítica de enzimas producidas por *tramete sp EUM1*, *Pleurotus Osteatrus IE8* y *Aspergillus Niger AD96.4* en fermentación sólida*. <http://redalyc.uaemex.mx>
- Martínez, B., Infante, D., & Reyes, Y. (2013). Trichoderma spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. *Scielo*, 28(1).
- Méndez, R., & Reyes, R. (2010). *Evaluación de Trichoderma harzianum como agente de control biológico de enfermedades fungosas de suelo en el vivero de aclimatación de café clonado en la finca La Cumplida*.
- Méndez-Matías, A., Robles, C., Ruiz-Vega, J., & Castañeda-Hidalgo, E. (2018). Compostaje de residuos agroindustriales inoculados con hongos lignocelulósicos y modificación de la relación C/N. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 9(2).
- Montoya, S., Sánchez, Ó., & Levin, L. (2014). Evaluación de actividades Endoglucanasa, Exoglucanasa, Lacasa y Lignina Peroxidasa en Diez Hongos de Pudrición Blanca. *Biología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 12(2), 115–124.
- Moreno, J., Pozo, C., & Nájera, F. (n.d.). *Aprovechamiento del bagazo de caña de azúcar en la fabricación de bloques ecológicos para mampostería liviana*.
- Moreno Ruiz, N. A. (2013). *Aislamiento de hongos y bacterias celulolíticos a partir del bagazo de caña de azúcar*.
- Munguía, D. (2016). Deslignificación de la penca de Agave tequilana F.A.C. Weber empleando peróxido de hidrógeno alcalino como pretratamiento para la producción de biohidrógeno.
- Nelson, D., & Cox, M. (2009). *Lehninger Principios de Bioquímica* (Quinta). Ediciones Omega, S.A.
- Neri, F. (2002). *Caracterización y cinética de la pirólisis del bagazo de caña de azúcar* [Tesis de maestría, Centro de Investigación en Materiales Avanzados]. Repositorio Institucional Centro de Investigación en Materiales Avanzados. <https://cimav.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1004/2303/1/Tesis%20M.%20Francisco%20Neri.pdf>.
- Nohlen, D. (2020). El Método Comparativo. In H. Sánchez de la Barquera y Arroyo (Ed.), *Antologías para el estudio y la enseñanza de la ciencia política. Volumen III: la metodología de la ciencia política*. Instituto de Investigaciones Jurídicas.
- Ojumu, T., Solomon, B., Betiku, E., Layokun, S., & Amigun, B. (2003). Cellulase Production by *Aspergillus flavus* Linn Isolate NSPR 101 fermented in sawdust, bagasse and corncob. *African Journal of Biotechnology*, 2(6), 150–152. <http://www.academicjournals.org/AJB>
- Ovando-Chacón, S., & Waliszewski, K. (2005). Preparativos de celulasas comerciales y aplicaciones en procesos extractivos. *Universidad y Ciencia*, 21(42), 113–122. www.ujat.mx/publicaciones/uciencia
- Peña, D. (2020). *Procesos y parámetros de operación de un ingenio azucarero en el Ecuador*.

- Pérez, J., & Noriega, M. (2002). Fisiología General. Open Course Ware.
- Pernalet, Z., Piña, F., Suárez, M., Ferrer, A., & Aiello, C. (2008). Fraccionamiento del bagazo de caña de azúcar mediante tratamiento amoniacal: efecto de la humedad del bagazo y la carga de amoníaco. *Bioagro*, 20(1), 3–10. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1316-33612008000100001&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Ramos Agüero, D., & Terry Alfonso, E. (2014). Generalidades de los abonos orgánicos: Importancia del Bocashi como alternativa nutricional para suelos y plantas. *Cultivos Tropicales*, 35(4), 52–59. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362014000400007&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Rodríguez, A., & Sánchez, P. (2005). Especies de frutales cultivadas en Cuba en la Agricultura Urbana. *EFCAU*.
- Roque-Díaz, P. (1985). Studies on thermal decomposition and combustion mechanism of bagasse under non-isothermal conditions. *Thermochimica Acta*, 93, 349–352. [https://doi.org/10.1016/0040-6031\(85\)85088-7](https://doi.org/10.1016/0040-6031(85)85088-7)
- Sabino, C. (2001). *El proceso de investigación*. El Cid.
- Sánchez, C. (2009). Lignocellulosic residues: Biodegradation and bioconversion by fungi. *Biotechnology Advances*, 27(2), 185–194. <https://doi.org/10.1016/J.BIOTECHADV.2008.11.001>
- Sánchez-Saldaña, L., Galarza, C., & Matos-Sánchez, R. (2010). *Infecciones micóticas sistémicas o profundas* (Vol. 20, Issue 1).
- Sanz, A. (2009). Tecnología de la celulosa. La industria papelera. Química Orgánica Industrial.
- Tigua, G., & Espinoza, R. (2013). *Estudio de la Industria Azucarera y su impacto en el desarrollo socio-económico del Cantón Milagro*.
- Tonon, G. (2011). La Utilización del Método Comparativo en Estudios Cualitativos en Ciencia Política y Ciencias Sociales: Diseño y Desarrollo de una Tesis Doctoral. *KAIROS*, 15(27).
- Torres, J. (1991). *MICOSIS SISTEMICAS (MONOGRAFIAS CLINICAS EN ENFERMEDADES INFECCIOSAS)*. DOYMA.
- Vásquez, A. (2008). Caracterización biológica del hongo *Aspergillus* sp y su impacto en la salud. *Latindex*, 3(4).
- Villarroel, A. (2006). *Aplicación de técnicas para la clarificación del jugo de caña (Saccharum officinarum) como mejorador de sus características organolépticas*.

ANEXOS

ANEXO A

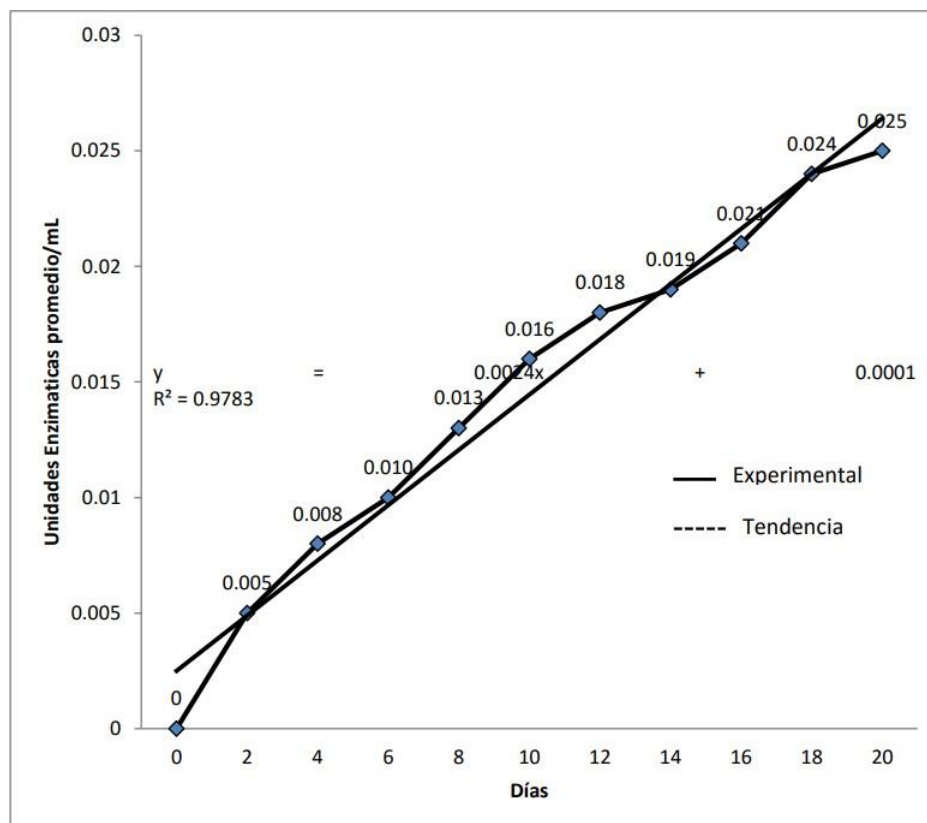


Figura 11. Producción de Celulasas por *Aspergillus niger*, hasta 20 Días de Incubación

Fuente: Llenque *et al.* (2015)

ANEXO B

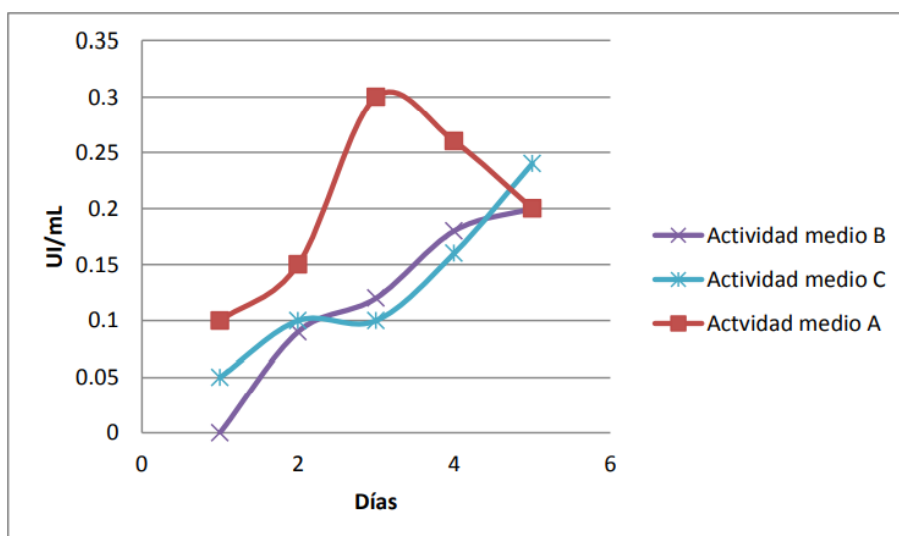
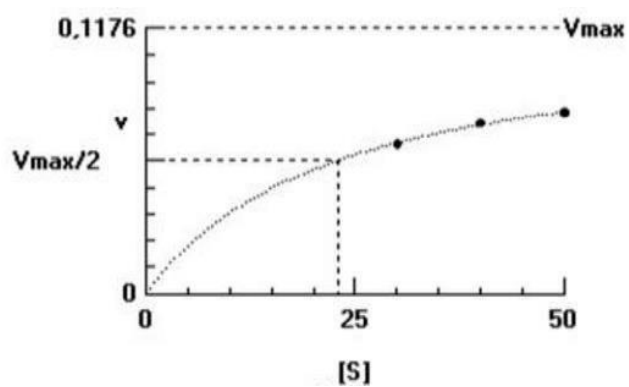


Figura 12. Producción de Celulasa en Función del Tiempo

Fuente: Acevedo *et al.* (2014)

ANEXO C



Dosificación de enzima (mL)	V_{\max} (mg/mL*s)
0,21	0,08495
0,42	0,1034
0,84	0,1176

Figura 13. Relación de la Velocidad con la Dosificación de Enzima

Fuente: Acevedo *et al.* (2014)

ANEXO D

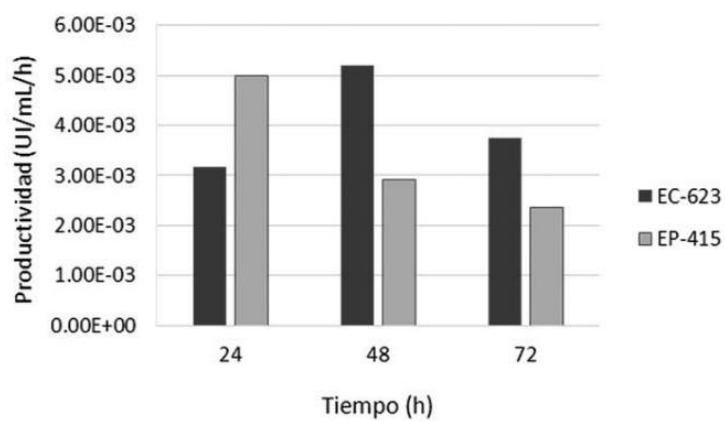


Figura 14. Productividad de las Cepas EC-623 y EP-415 en los Distintos Tiempos de Fermentación.

Fuente: De la Cruz *et al.* (2016)