

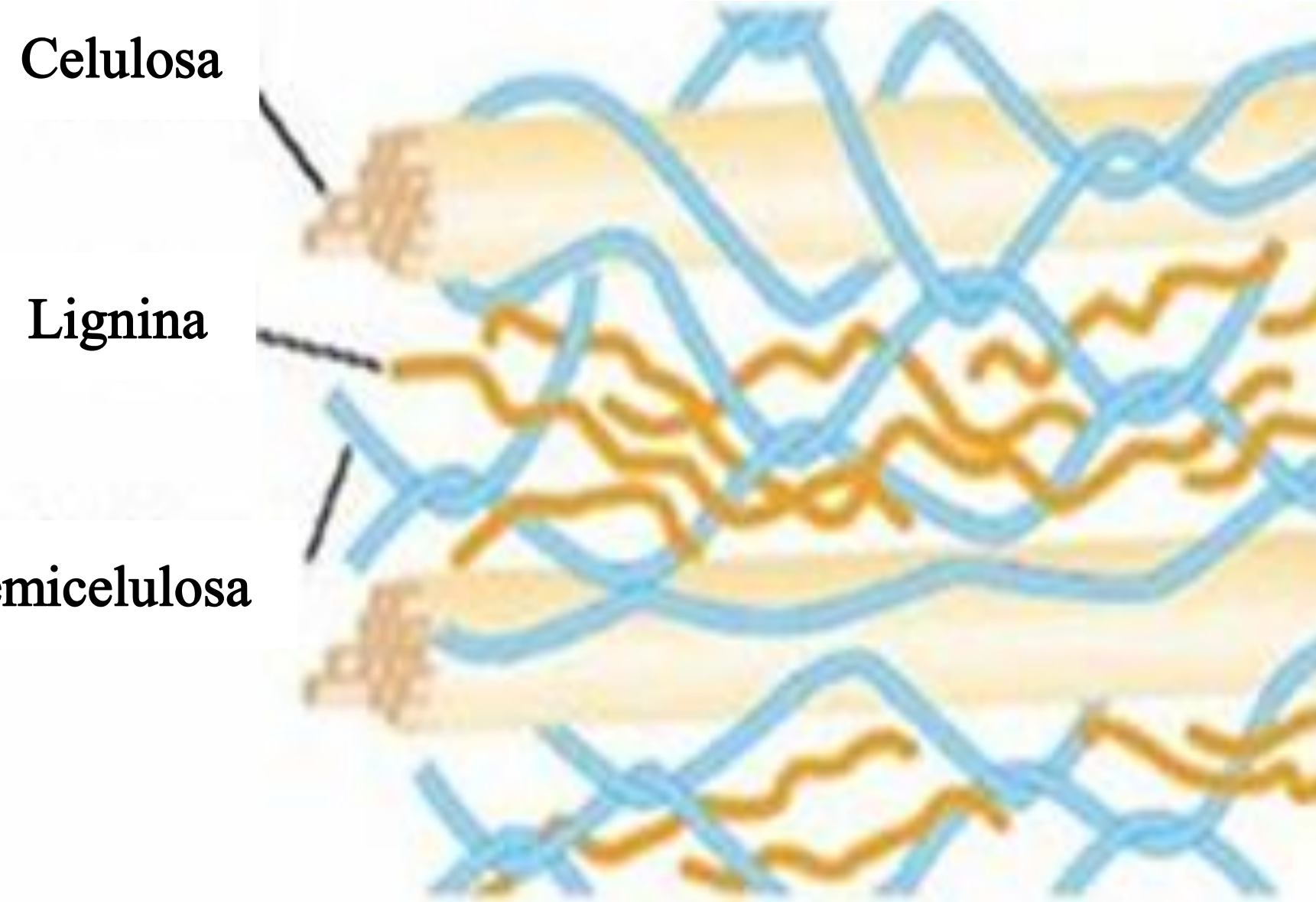
El Paraguay es un país que cuenta con un volumen importante de subproductos de los cultivos que ya no son utilizados en las industrias que los procesan, es por esto que una posible opción podría ser utilizarlos como medio de crecimiento de diferentes microorganismos, los cuales metabolizarán estos residuos y los convertirán en algún producto aprovechable posteriormente. El microorganismo utilizado para el estudio fue el *Neocallimastix frontalis*, un hongo anaerobio ruminal mientras que como medio de cultivo fueron elegidos el bagazo de caña de azúcar —*Saccharum officinarum*— y la cáscara de vaina de soja —*Glycine max*—. La investigación se llevó a cabo en dos etapas. En la primera se preparó el inoculo del hongo anaerobio ruminal para evaluar y ajustar la composición del medio de cultivo y las técnicas analíticas utilizadas. En una etapa posterior, se procedió a la evaluación de la actividad enzimática y de la tasa de degradación de los sustratos seleccionados, en la mejor condición obtenida de la etapa anterior.

Introducción:

Loera (2002), describió a los componentes de la pared celular de las plantas, y además los consideró como una fuente renovable de polisacáridos que existe en la naturaleza.

También explicó que está compuesta por tres polisacáridos principales que son:

- Celulosa, componente principal de las células vegetales, le proporciona rigidez a la pared celular.
- Hemicelulosa, otro componente con ramificaciones que une las fibras de celulosa y además es un refuerzo estructural.
- Lignina que es el componente que le da soporte a toda la planta.



La mejor forma de conducir las etapas en la conversión de biomasa por acción enzimática es a través de la hidrólisis de la celulosa y de la hemicelulosa para obtener, glucosa y xilosa, respectivamente, en la misma unidad de proceso. (Machado de Castro y Pereira, 2009) La hidrólisis enzimática es un proceso de degradación catalizado por un grupo de enzimas, estas al actuar en conjunto producen la degradación de la celulosa.

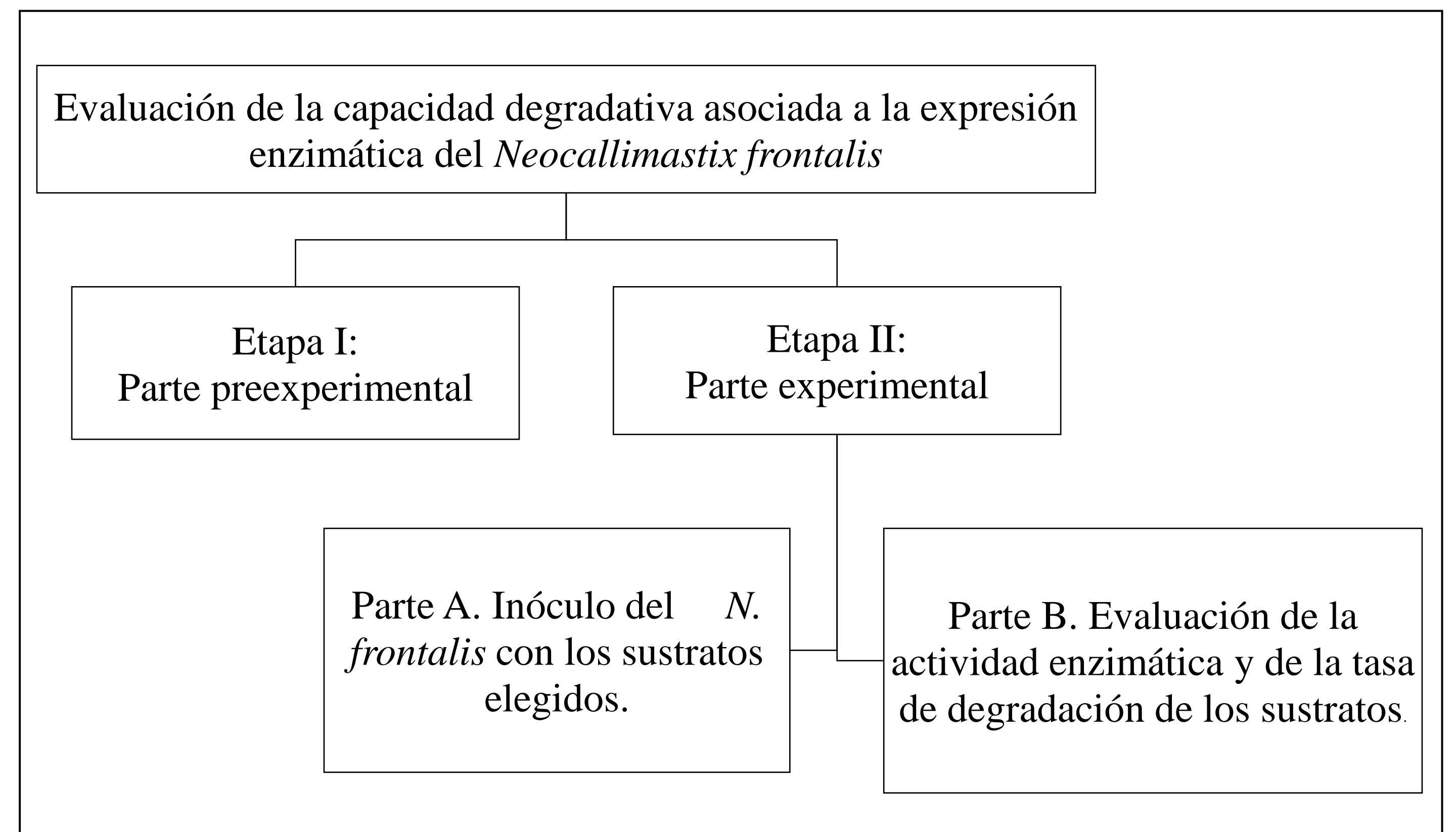
El proceso necesita de un pretratamiento para que las enzimas puedan atacar directamente a las moléculas de la matriz de los materiales lignocelulósicos, reduciendo la cristalinidad de la celulosa para luego disociar el complejo formado por la celulosa y la lignina y de esta forma aumentar la superficie de contacto. (Oliva, 2003) Uno de los tipos de pretratamiento que se podría aplicar es el biológico, en donde los materiales lignocelulósicos son degradados por ciertos microorganismos para dejar expuestos a los carbohidratos elementales, que luego serán atacados por las enzimas. Este proceso se hace más sencillo con algunos tipos de hongos. Estos metabolizan los sustratos por medio del proceso de la pudrición. Este tipo de pretratamiento posee ciertas ventajas, según Oliva (2003), sobre las otras como ser la menor cantidad de energía necesaria y las suaves condiciones ambientales en la que ocurre el proceso. El inconveniente que podría citarse es la lenta velocidad en la hidrólisis.

El hongo anaerobio ruminal, *Neocallimastix frontalis*, degrada a la celulosa de los sustratos lignocelulósicos. (Jenning, D.H., 1995) Además por tener una actividad endoxilanolítica muy elevada, puede degradar también a la lignina de dichos sustratos. (Mayorga, O., 2005) El *N. frontalis* fue seleccionado para el estudio debido a su capacidad de colonizar el material para degradarlo y generar enzimas activas en el medio extracelular. Las enzimas funcionan en conjunto y son expresadas de acuerdo a la composición de los sustratos ingeridos y los productos generados en la digestión. (Wood, 1995)

En el Paraguay el bagazo de caña de azúcar y la cáscara de la vaina de soja mayoritariamente se utilizan como complementos de combustibles para caldera, por lo que se propone una oportunidad para reutilizar estos subproductos como medio de crecimiento para hongos anaerobios ruminales que a su vez generan enzimas que degradan el sustrato lignocelulósico, originando nuevos sustratos útiles para generar nuevos productos que podrían ser más rentables para la industria.

Se propone degradar los sustratos lignocelulósicos, bagazo de caña de azúcar y cáscara de vaina de soja, para determinar las mejores condiciones de desarrollo del hongo anaerobio ruminal y su capacidad para degradar estos sustratos.

Metodología:



La investigación tendrá un diseño experimental de corte longitudinal, se analizarán los cambios en la tasa de degradación y la actividad enzimática del hongo respecto a la velocidad de agitación del medio y la concentración de los sustratos a través del tiempo. Ambas variables independientes en tres niveles diferentes.

Variables	Dominio experimental		
	Nivel -	Nivel 0	Nivel +
Velocidad de agitación (rpm)	0	50	100
Concentración de sustrato (g/100 mL)	1	3	5

Matriz representativa de las variables y sus niveles

Los datos serán analizados por medio de un análisis factorial 2². La siguiente tabla demuestra el plan de experimentación para el diseño factorial completo 2² con 3 repeticiones aplicadas en el punto central.

	Velocidad de agitación	Concentración del sustrato
1	0	1
2	100	1
3	0	5
4	100	5
5	50	3
6	50	3
7	50	3

Con los datos obtenidos se procede a completar la siguiente tabla para posteriormente obtener el valor ANOVA.

FV	SC	GL	CM	F ₀	Valor p
A	SC _A	2	CM _A	CM _A /CM _e	P(F>F ₀)
B	SC _B	2	CM _B	CM _B /CM _e	P(F>F ₀)
error	SC _e	3 ² (n-1)	CM _e		
Total	SC _T	n3 ^k - 1			

Donde:

- FV es el factor de variación.
- SC es la suma de los cuadrados.
- GL son los grados de libertad.
- CM es el cuadrado medio.
- F₀ es el valor de la F para cada nivel.
- n es el número de repeticiones.

Bibliografía:

- JENNING, D.H., 1995. The physiology of fungal nutrition. Cambridge University Press, March 9. 1995. 622 p.
- LOERA, O. 1992. Las xilanasas microbianas y sus aplicaciones. Biotecnología 2002. Volumen 7. Número 2.
- MACHADO DE CASTRO, A. y PEREIRA Jr., N. 2009. Produção, propriedades e aplicação de celulases na hidrólise de resíduos agroindustriais. Production, properties and application of cellulases in the hydrolysis of agroindustrial residues.
- MAYORGA, O. et al., 2005. Efecto de la fuente de carbono y el tipo de inóculo sobre la producción de enzimas hidrolíticas del hongo anaeróbico ruminal *Neocallimastix frontalis* NFT 101. Corpoica. Ciencia y Tecnología Agropecuaria, vol. 6, núm. 1, enero-junio, 2005, pp. 12-19. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria. Cundinamarca, CO.
- OLIVA, J. 2003. Efectos de los productos de degradación originados en la explosión por vapor de biomasa de chopo sobre *Kluyveromyces marxianus*. Tesis (Dr.). Madrid, ES: 160 p.
- WOOD, T. M., WILSON, C.A. et al., 1995. A highly active extracellular cellulose from the anaerobic rumen fungus *Neocallimastix frontalis*.