

**Producción de Celulasas Fúngicas a partir de Procesos de Fermentación Utilizando
Residuos Agroindustriales**

Olga Lucila Ruiz Sabogal

Asesor

Leidy Johanna Gómez Sampedro

Johanna Marcela Flórez Castillo

Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD

Escuela de Ciencias Básicas, Tecnología e Ingeniería ECBTI

Maestría en Biotecnología Alimentaria

2025

Nombre Director de Trabajo de Grado

Jurado

Jurado

Dedicatoria

En primer lugar, a Dios, fuente de toda sabiduría y fortaleza, por guiarme en cada paso de este proceso.

A mi familia, cuyo amor y apoyo incondicional han sido fundamentales en todo momento.

A mis compañeros, por su solidaridad y compartir este proceso lleno de retos.

Gracias a todos los que, de alguna manera, han contribuido a que este proyecto sea una realidad.

Su apoyo ha sido indispensable para la culminación de este trabajo

Agradecimientos

Un agradecimiento especial a mis asesoras, por el tiempo, el conocimiento compartido y la confianza depositada en este proyecto, elementos que hicieron posible su culminación exitosa.

“La vida no es fácil, para ninguno de nosotros. Pero ... ¡Que importa! Hay que perseverar y, sobre todo, tener confianza en uno mismo. Hay que sentirse dotado para realizar alguna cosa y que esa cosa hay que alcanzarla, cueste lo que cueste”.

Marie Curie.

Resumen

Las celulasas fúngicas son enzimas producidas por hongos que tienen la capacidad de descomponer la celulosa, un polímero que constituye la principal estructura de las paredes celulares de las plantas. Se producen a partir de la fermentación de residuos agroindustriales, siendo este el sustrato que se encuentra en residuos lignocelulósicos como son: los residuos de fruta, cáscaras, tallos y otros, los cuales no son aprovechados y son desechados como desperdicios. Es por esta razón que estas enzimas juegan un papel crucial en la degradación de la biomasa vegetal y tiene diversas aplicaciones en la industria y la investigación. En esta investigación se realizó la búsqueda de reportes de los hongos productores de celulasas y los métodos de fermentación utilizados para maximizar la producción de estas enzimas a partir del aprovechamiento de los residuos agroindustriales. De los resultados reportados para esta revisión se encuentran que los organismos fúngicos más utilizados son el *Trichoderma reesei* y *Aspergillus niger* en la fermentación sólida (SSF) como en fermentación sumergida (SmF). Sin embargo, es la SSF, el método más cómodo y barato de utilizar, ya que aprovecha sustratos con alta disponibilidad en celulosa como la caña de azúcar, la paja de maíz, residuos de plátano y otros residuos frutales, que al ser usados como energía para la producción de celulasas baja el costo de producción y apoya a la gestión ambiental que se da por los desperdicios de estos productos. Las enzimas celulasas tienen el potencial de convertirse en una herramienta clave para un futuro más sostenible, donde la biotecnología juega un papel fundamental en la reducción de residuos y la creación de productos de alto valor añadido a partir de lo que antes era considerado un desperdicio.

Palabras clave: organismos fúngicos, residuos agroindustriales, “*Trichoderma reesei*”, “*Aspergillus niger*”, materiales lignocelulósicos, actividad enzimática.

Abstract

Fungal cellulases are enzymes produced by fungi that have the ability to break down cellulose, a polymer that constitutes the main structure of plant cell walls. They are produced from the fermentation of agro-industrial residues, which serve as the substrate found in lignocellulosic waste such as fruit residues, peels, stems, and others, which are often unused and discarded. For this reason, these enzymes play a crucial role in the degradation of plant biomass and have diverse applications in industry and research. In this research, we sought reports on cellulase-producing fungi and the fermentation methods used to maximize the production of these enzymes from the utilization of agro-industrial residues.

From the results reported for this review, *Trichoderma reesei* and *Aspergillus niger* are found to be the most commonly used fungal organisms in both solid-state fermentation (SSF) and submerged fermentation (SmF). However, SSF is the more convenient and cost-effective method, as it utilizes readily available cellulose-rich substrates like sugarcane bagasse, corn stover, banana residues, and other fruit wastes. Using these as energy sources for cellulase production lowers production costs and supports environmental management by reducing waste from these products. Cellulase enzymes have the potential to become a key tool for a more sustainable future, where biotechnology plays a fundamental role in waste reduction and the creation of high value-added products from what was once considered waste.

Keywords: fungal organisms, agro-industrial waste, "*Trichoderma reesei*", "*Aspergillusniger*", lignocellulosic materials, enzymatic activity.

Tabla de Contenido

Introducción.....	13
Planteamiento del problema	15
Justificación	17
Objetivos.....	19
Objetivo General.....	19
Metodología.....	20
Descripción de la investigación	20
Recolección de la información	20
Diseño de la Investigación.....	21
Elementos del Diseño de la investigación	21
Marco Teórico.....	23
Celulasas y su importancia biotecnológica.....	24
Tipos de Celulasas	25
Fermentación enzimática	27
Fermentación en estado sólido. (SSF).....	28
Fermentación sumergida. (SmF)	29
Organismos Fúngicos	29
Residuos Agroindustriales.....	31
Importancia de la Composición Química de los Residuos Agroindustriales.....	32
Pre-Tratamiento.....	36
Organismos con Capacidad Celulolíticas	39
Trichoderma reesei	39
Metabolitos secundarios.	41
Productos de la hidrólisis enzimática de Trichoderma reesei con residuos lignocelulósicos ..	41
Aspergillus niger.....	42
Penicillium.....	42
Estudios realizados en producción de Celulasas.....	43
Fermentación en organismos fúngicos	45

Producción de Enzimas más Eficiente.....	45
Condiciones experimentales en Fermentación en Sólido (SSF) y Fermentación Sumergida (SmF).....	48
Sustrato	48
Disponibilidad de nutrientes	48
Control del proceso.....	48
Temperatura.....	49
Tamaño de la partícula.....	49
Nivel de humedad.....	49
pH	50
Fuente de Carbono y nitrógeno.....	50
Oxígeno disuelto.....	50
Condiciones de inóculo.....	51
Agentes inductores y reguladores	51
Control de contaminantes	51
Viabilidad técnica	57
Eficiencia de organismos fúngicos:.....	57
Adaptación a sustratos lignocelulósicos:.....	58
Condiciones optimizadas:.....	58
Biorreactores utilizados	59
Viabilidad económica	59
Reducción de costos de sustratos.....	59
Menor inversión en infraestructura.....	59
Rentabilidad por aplicaciones industriales	60
Desarrollo en la Industria.....	61
Aplicaciones en la Industria.....	62
Industria Alimentaria	62
Estudios económicos en la producción de Celulasas.....	65
Conclusiones.....	68
Recomendaciones	70

Referencias Bibliográficas	71
----------------------------------	----

Lista de Figuras

Figura 1 <i>Acción de diversas enzimas celulasas sobre la capa superficial de la celulosa</i>	27
Figura 2 <i>Productos de la hidrólisis enzimática de residuos lignocelulósicos</i>	41
Figura 3 <i>Industrias líderes a nivel global</i>	61

Lista de Tablas

Tabla 1 <i>Contenido lignocelulósico de residuos agroindustriales</i>	32
Tabla 2 <i>Producción de celulasas con residuos agroindustriales</i>	35
Tabla 3 <i>Pretratamientos utilizados para sustratos agroindustriales</i>	36
Tabla 4 <i>Reporte de uso de microorganismos para producción de celulasas</i>	44
Tabla 5 <i>Comparativo entre variables SSF – SmF</i>	46
Tabla 6 <i>Actividad enzimática tipo fúngico</i>	52
Tabla 7 <i>Comparativos organismos fúngicos</i>	55
Tabla 8 <i>Aplicaciones de las celulasas en diversas industrias</i>	63

Lista de Símbolos y Abreviaturas

SSF: Fermentación sólida

SmF: Fermentación sumergida

A. Níger: *Aspergillus niger*

T. reesei: *Trichoderma reesei*

CBH: Celulasa de tipo Celulasa Hidrolítica que actúa sobre enlaces β -1,4-glucosídicos en la celulosa.

CBHI: Celulasa de tipo I, endoglucanasas que rompe enlaces internos de la cadena celulosa.

CBHII: Celulasa de tipo II, actúa sobre la celulosa, pero con un mecanismo y especificidad diferentes a las de tipo I.

CMCasa: endoglucanasas

FPasa: Celulasa Total

FPU: Filter Paper Unit (medida de actividad de celulasa)

Introducción

La producción de celulasas fúngicas mediante la fermentación de residuos agroindustriales presenta un gran potencial para genera impactos positivos en las regiones de Colombia, un país con una economía agrícola diversa, que enfrenta retos importantes relacionados con la gestión de residuos y el impulso de un desarrollo económico sostenible. El aprovechamiento de los residuos agroindustriales ha emergido como una estrategia biotecnológica prometedora, debido a la composición de estos, que están compuestos principalmente por celulosa, hemicelulosa y lignina, los cuales presentan un gran potencial como sustrato para la producción de enzimas, específicamente las celulasas, que desempeñan un papel clave en la descomposición de la celulosa en azúcares simples, que pueden ser utilizados en la producción de biocombustibles, productos químicos de valor añadido y otras aplicaciones industriales (Kuhad et al, 2011).

La fermentación con hongos, particularmente especies del género *Trichoderma* y *Aspergillus*, ha demostrado ser una técnica eficiente para la producción de celulasas, debido a la capacidad de estos microorganismos para secretar altas concentraciones de estas enzimas. El uso de residuos agroindustriales como sustrato no solo reduce los costos de producción de celulasas, sino que también contribuye a la reducción de desechos, alineándose con los principios de la economía circular y la sostenibilidad (Singh et al, 2021). De igual manera, se alinea con los objetivos de desarrollo sostenible (ODS), especialmente con los siguientes:

ODS 9 (industria, innovación e infraestructura), ya que con el uso de fermentación en estado sólido y pretratamientos físicos se optimizan procesos industriales con menor consumo energético en comparación con los métodos químicos tradicionales; adicionalmente la producción enzimática con organismos fúngicos demuestra innovación en el aprovechamiento de

recursos locales como con residuos de plaza de mercados, fincas y otros residuos agrícolas (Sánchez et al, 2024).

ODS 12 (Producción y consumo responsable), ya que la valorización de la celulosa presente en residuos (bagazo, cáscaras) para producir celulasas, evita que el 51% de residuos biodegradables en Colombia terminen en rellenos sanitarios y se logra un 60% de consumo de celulosa residual en procesos como la hidrólisis enzimática, minimizando residuos no tratados (Heredia-Martín, 2023).

ODS 13 (acción por el clima), al evitar la descomposición anaeróbica de residuos en vertederos, se reduce la generación de metano (CH_4), gas con 28 veces más potencial de calentamiento global que el CO_2 (Heredia- Martín, 2023) (ONU, 2015).

En los últimos años, diversas investigaciones han explorado la optimización de los procesos de fermentación, entre ellos la evaluación de variables como la selección de sustratos, las condiciones de cultivo, el tipo de fermentación (en estado sólido o sumergido), y la caracterización de las enzimas producidas. Estos estudios no solo subrayan el valor del aprovechamiento de residuos lignocelulósicos, sino que también aportan conocimientos sobre cómo mejorar la eficiencia de la producción de celulasas y sus aplicaciones industriales (Singh et al, 2021), tanto en el área textil, farmacéutica, alimentos y otros.

En esta revisión bibliográfica se analizan las investigaciones previas que han explorado el uso de residuos agroindustriales como fuente de sustrato para la producción de celulasas fúngicas, con el objetivo de evaluar el estado actual del conocimiento en esta área y destacar su potencial para aplicaciones sostenibles con los residuos agroindustriales producidos en las regiones de Colombia.

Planteamiento del Problema

La agroindustria representa un vasto segmento en la economía colombiana, así como a nivel mundial, los residuos obtenidos de la agroindustria son aprovechados en una parte como biocombustibles, compostaje, abono, alimentos de animales en granjas; sin embargo, gran parte de estos residuos se eliminan o se quema causando un daño ambiental grave (Areeshi, 2022).

Al encontrar un alto volumen de residuos a nivel agroindustrial a nivel mundial, como: bagazo de caña de azúcar, paja de trigo, residuos de maíz, cáscaras de café, residuos de papel (Hua Yunzi et al, 2023), y frutales como el banano, que genera un 20% de los residuos, el mango entre un 30 y 50%, la guayaba un 10%, la uva un 20% mientras que la piña genera un 45% a 55% (Shillavi et al, 2018). En Colombia, las actividades de los principales cultivos agrícolas son plátano, caña de azúcar, banano, caña panelera, arroz, café, maíz o palma de aceite (Romero-Sáez, 2022). Todos estos residuos constituyen un alto volumen de biomasa lignocelulósica aprovechable como sustrato en la producción de enzimas celulasas que, aunque es producida por muchas industrias a nivel mundial y regional su producción es costosa.

Estos residuos agroindustriales tienen algo en común y es su difícil degradación, debido a su estructura, sin embargo, la degradación de la celulosa a través de la celulasa fúngica está siendo muy estudiada por varios hongos degradadores de celulosa como *Aspergillus niger*, *Cladosporium*, *Penicillium chrysogenum*, *T reesei*, que han sido identificados para la producción de celulasas en función de su hábitat, donde las especies de *Aspergillus* y *T. Reesei* son destacados productores de celulasas (Ghosh et al, 2021).

Por lo anterior, esta monografía se centra en la identificación de las variables clave y los factores que influyen en la producción de celulasas fúngicas a través de una revisión de la literatura actual sobre el aprovechamiento de residuos agroindustriales como sustratos y las cepas

fúngicas más eficientes, buscando consolidar el conocimiento existente para optimizar su producción.

Justificación

La búsqueda de métodos sostenibles y eficientes para la producción de enzimas industriales, como las celulasas, ha cobrado relevancia en los últimos años debido a la creciente demanda de biocombustibles y la necesidad de manejar residuos agroindustriales de manera eficiente. Las celulasas, que catalizan la hidrólisis de la celulosa, son esenciales en la conversión de biomasa lignocelulósica en azúcares fermentables, y su obtención a partir de hongos ha demostrado ser particularmente prometedora debido a la alta productividad y la especificidad enzimática de estos organismos. En este contexto, el uso de los residuos vegetales como sustrato para la fermentación en estado sólido ofrece una solución atractiva, ya que no solo aprovecha un subproducto agrícola abundante y de bajo costo, sino que también contribuye a la reducción de residuos orgánicos, mitigando su impacto ambiental (Sun & Cheng, 2002).

La importancia de aprovechar los organismos fúngicos, especialmente aquellos capaces de producir celulasas, radica en su impacto tanto ecológico como económico. Las celulasas tienen un papel fundamental en la degradación de biomasa celulósica, que se encuentra comúnmente en residuos agroindustriales. Estos residuos, provenientes de la actividad agrícola y de consumo alimentario como es el caso de los bagazos y las cáscaras, constituyen un sustrato de bajo costo con un gran potencial para la producción de biocombustibles y de celulasas, dando como resultado la valorización de estos residuos y apuntando a la producción y consumo responsable que corresponde al ODS 12.

Las celulasas son enzimas hidrolíticas la tercera enzima más utilizada en la industria global; sin embargo debido a su baja disponibilidad y a los altos costos de producción, no representan un acceso amplio y económicamente viable para todas las aplicaciones

potenciales, sus usos impactan en diferentes industrias y sus aplicaciones van desde la producción de biocombustibles, extendiéndose a sectores como el alimentario, enfocándose no solamente al mejoramiento de procesos en la industria alimentaria sino también hacia la extracción de compuestos bioactivos. Por lo tanto, la producción de estas enzimas a partir de residuos lignocelulósicos puede brindar ventajas técnicas y económicas a nivel industrial debido a que la materia prima es renovable y de bajo costo (Miranda, 2019).

Por todo lo anterior, esta monografía realiza una búsqueda bibliográfica con investigaciones similares reportadas en artículos científicos que sustentan el aprovechamiento de los residuos lignocelulósicos utilizando organismos fúngicos y su impacto en la utilización de las enzimas celulasas en la industria alimentaria y procesos biotecnológicos, que condensara la revisión bibliográfica en este tema lo cual ayuda a disminuir el tiempo de revisión y facilita la comparación de los diferentes residuos empleados como medios de cultivo para la obtención de celulasas.

Objetivos

Objetivo General

Analizar la información bibliográfica sobre la producción de celulasas a partir de hongos, utilizando residuos agroindustriales como sustratos en procesos de fermentación, comparando los resultados reportados en términos de viabilidad técnica, aplicaciones industriales y su contribución a la sostenibilidad ambiental.

Objetivos Específicos

Identificar las condiciones experimentales reportadas en la literatura para la producción de celulasas fúngicas mediante el aprovechamiento de residuos agroindustriales en procesos de fermentación.

Evaluar los resultados obtenidos en diferentes estudios sobre la viabilidad técnica y económica de la producción de celulasas utilizando residuos agroindustriales.

Comparar las aplicaciones industriales documentadas de las celulasas producidas mediante residuos agroindustriales, destacando su impacto en la sostenibilidad ambiental.

Metodología

Descripción de la Investigación

El tipo de estudio que se trabajó en este proyecto es una revisión bibliográfica, que tuvo como propósito investigar sobre un tema específico, en este caso sobre la producción enzimática de organismos fúngicos, donde se recopiló información que apoyó el trabajo con referencias de otros autores que investigan en la misma línea.

En este proyecto se realizó una revisión cualitativa, donde se evaluó la producción de enzimas celulósicas de acuerdo con los principios de fermentación utilizando organismos fúngicos y sustratos como residuos agroindustriales, donde se determinó su comportamiento de la acción enzimática, comparado con las investigaciones encontradas en las bases de datos, validando así mediante un análisis crítico los resultados obtenidos.

Recolección de la Información

La búsqueda de la información se realizó apoyado en bases de datos correspondientes a la Universidad Nacional Abierta y a Distancia – UNAD, se tomó cada instrumento de recolección teniendo en cuenta el análisis de información y las variables con las palabras claves y ecuaciones de búsqueda para artículos científicos y artículos de revisión.

Se recopiló la bibliografía teniendo en cuenta los años publicados desde, (2004– 2024), Esto con el fin de obtener puntos de referencia que den reportes, teorías o procesos sobre el tema a investigar.

La búsqueda de información se realizó apoyado en los operadores de búsqueda booleanos como: (AND – OR – NOT – Comillas (“”) – Asterisco (*) – paréntesis ()) en bases de datos académicas ya mencionadas, lo que permitió afinar las búsquedas y obtener los resultados más relevantes y precisos.

Diseño de la Investigación

Para este trabajo se planificó y estructuró el proceso de investigación para abordar el tema de estudio, teniendo en cuenta el procedimiento de búsqueda, los instrumentos de investigación, análisis de la información, alcance y delimitaciones que guían el proceso de recolección y presentación de información de fuentes secundarias.

Elementos del Diseño de la Investigación

Definición del Tema y Palabras Claves. El primer paso consistió en delimitar claramente el tema de la monografía: La obtención de celulasas a partir de hongos utilizando residuos agroindustriales como sustrato. Se identificaron las palabras claves relacionadas como “celulasas”, “producción de enzimas”, “fermentación en estado sólido”, “hongos filamentosos”, “residuos agroindustriales”, y “biotecnología industrial”. Estas palabras claves se utilizaron en diferentes combinaciones para maximizar la relevancia y el alcance de la búsqueda.

Selección de Fuentes de Información. Se procedió a identificar las bases de datos científicas más adecuadas para la búsqueda de información, incluyendo Web of Science, Scopus, Science Direct y Google Scholar. Se priorizó artículos de revisión, investigaciones experimentales y capítulos de libros relevantes publicados en revistas científicas de alto impacto y editoriales reconocidas en el campo de biotecnología y la química industrial.

Criterio de Inclusión y Exclusión. Se establecieron criterios claros para la inclusión de artículos en la revisión. Se incluyeron estudios publicados en los últimos 20 años, preferentemente en inglés, que abordan la producción de celulasas mediante hongos, la utilización de residuos agroindustriales como sustratos y avances en la fermentación. Se excluyeron artículos que no proporcionen datos experimentales relevantes, revisiones de bajo impacto, y estudios que no estén directamente relacionados con el objetivo de la monografía.

Revisión y Evaluación Crítica. Los artículos seleccionados fueron sometidos a una revisión crítica para evaluar su relevancia, calidad metodológica y aportes al campo de estudio. Se prestó especial atención a estudios que detallan procedimientos experimentales, rendimientos de producción enzimática y análisis de la composición química de los residuos agroindustriales que mejor se comportan como sustrato. Además, se considera la reproducibilidad y aplicabilidad de los resultados en contextos industriales.

Organización y Síntesis de la Información. Una vez se recopiló y evaluó la información, se procedió a organizarla de acuerdo con los subtemas definidos en la estructura de la monografía. Se sintetizaron los hallazgos más relevantes, destacando tendencias, enfoques metodológicos y brechas en la investigación actual. Terminando con la redacción de la monografía siguiendo un esquema lógico y coherente, asegurando que la discusión esté respaldada por la evidencia científica disponible.

Marco Teórico

Los residuos agroindustriales son subproductos generados a partir de las actividades agrícolas e industriales relacionadas con la producción de alimentos, fibras, biocombustibles y otros bienes de consumo. Estos residuos incluyen materiales orgánicos como bagazo de caña, cáscaras de frutas, restos de cultivos, residuos de la industria cárnica y láctea, así como productos químicos utilizados en la agricultura (Singh, 2021). Para este trabajo se tiene en cuenta los residuos agrícolas propiamente, los cuales se aprovechan mediante tecnologías como la fermentación fúngica que no solo ayuda a mitigar los impactos ambientales negativos, sino que también promueven un uso más eficiente de los recursos naturales, contribuyendo a la sostenibilidad de los sistemas agrícolas e industriales.

Dentro de la estructura de los residuos agrícolas que son generalmente residuos de cáscaras, tallos, hojas, semillas y otros, se encuentra la celulosa que es el principal componente de la biomasa vegetal (50%), y la fuente de carbono renovable más abundante de la tierra, se encuentra de forma pura o asociado con otros polisacáridos como es la hemicelulosa (30%) y la lignina (20%), creando un marco estructural fuerte en la pared celular de la planta, creando una barrera física y química para acceder al carbono, lo que limita el aprovechamiento de la misma (Gutiérrez-Rojas, 2015). Este polisacárido es lineal y está formado por unidades monoméricas de glucosa unidas por enlaces $\beta - 1,4 -$ glicosídicos, formadas principalmente por cadenas cortas de celobiosa y glucosa (Yunzi Hu, 2023), las cuales se desprenden del polímero de celulosa insoluble mediante la hidrólisis enzimática realizada por las celulasas.

La celulosa que hace parte de la estructura de la pared celular de las plantas conforma los polisacáridos estructurales llamados lignocelulosas, ya que dentro de ella pueden contener polímeros de azúcares como pentosas (arabinosa y xilosa), hexosas (glucosa, galactosa, manosa), lo que hace un polímero de cadena ramificada (Ghosh, 2021), y haciéndola aún más resistente a

la hidrólisis química y biológica.

Dentro de la estructura de la celulosa se encuentran regiones amorfas “desordenadas”, con una composición heterogénea caracterizada por una variedad de enlaces, es decir, que estas zonas amorfas (desordenadas) contienen una variedad de tipos de enlaces químicos o interacciones moleculares, no hay un patrón regular, lo que los hace diversos. Este arreglo asimétrico común en las regiones amorfas hace un punto crucial para la biodegradación de la celulosa. Aparte de estas regiones, se encuentra fibras de celulosa que contienen irregularidades en su estructura permitiendo espacios que se forman como microporos y capilares lo suficientemente amplio para permitir la entrada de moléculas relativamente grandes, como es el caso de las enzimas celulolíticas (Gutiérrez- Rojas, 2015).

La estructura de la celulosa es un punto importante a tener en cuenta, Peciulyte (2014), y es el orden de los polímeros individuales que se presentan en una fibrilla de la celulosa y esto depende en gran medida de su ubicación dentro de ella ya que constituyen la red de celulosa, esta red tiene una orientación compleja y la exposición del área superficial al ataque enzimático es una de las propiedades limitantes durante la hidrólisis enzimática.

Celulasas y su Importancia Biotecnológica

Las celulasas son enzimas específicas que descomponen la celulosa en moléculas más simples como la glucosa y son cruciales en diversos procesos biológicos e industriales. Son producidas por hongos, bacterias, protozoos, plantas y algunas especies animales. Entre los anteriores organismos, los que destacan en la producción de estas enzimas son los hongos como *Trichoderma reesei* que tienen la capacidad de producir mayores cantidades de celulasas en comparación con las bacterias, las plantas y los animales.

En la biotecnología, las celulasas han abierto un mercado mundial de enzimas debido a su gran variedad de fines industriales por lo cual ha conducido a una demanda cada vez mayor de

identificar y aislar nuevas celulasas apoyado en uso de enfoque metagenómicos, metatranscriptómicos de secuenciación con el fin de aprovechar la diversidad microbiana y con el fin de aislar nuevas celulasas y realizar mejoras en sus actividades catalíticas (Ghosh, 2021).

Tipos de Celulasas

Las celulasas se clasifican según su especificidad hidrolítica hacia los enlaces $\beta - 1,4$ glucosídicos entre dos o más carbohidratos o un carbohidrato y una fracción no carbohidratada.

Estas enzimas tienen tres componentes: exoglucanasas (EC 3.2.1.91.), endoglucanasas, (EC 3.2.1.4.) y β -D-glucósido glucanhidrolasa, (EC 3.2.1.21). Con estos tres componentes se realiza la hidrólisis enzimática que implica la acción sinérgica donde cada componente cumple una función específica (Gutiérrez – Rojas Ivonne, 2015).

Las Endoglucanasas (endo- $1,4 - \beta - D -$ glucanasas), actúan internamente en las cadenas de celulosa, rompiendo los enlaces glucosídicos de la cadena principal de polisacáridos. Generan fragmentos más cortos de celulosa (oligosacáridos y polisacáridos más pequeños) que son producto de la degradación en regiones amorfas de la celulosa.

Las Exoglucanasas (-exo- $1,4 \beta - D-$ glucanasas) cortan las cadenas de celulosa desde los extremos, de las regiones amorfa y cristalina liberando unidades de celobiosa (un disacárido compuesto por dos moléculas de glucosa) o glucosa individual.

Las Celobiohidrolasas son un tipo específico de exoglucanasas que actúan principalmente sobre los extremos de las cadenas de celulosa cristalina, liberando moléculas de celobiosa.

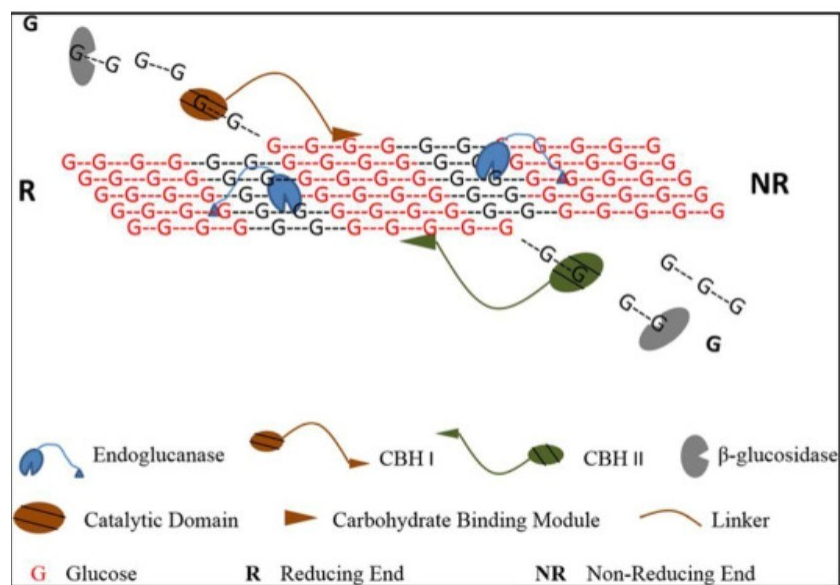
La Beta-glucosidasas ($1,4, \beta - D-$ glucosidasas) denominada también como celobiasa que puede convertir eficazmente los oligosacáridos celobiosas en moléculas de glucosa. Completa el proceso de degradación para que las células puedan utilizar la glucosa como fuente de energía.

La figura 1 describe la acción de las enzimas de las tres clases principales sobre la celulosa. Las moléculas de glucosa en color rojo representan la región cristalina y las moléculas

de glucosa en color negro están en la región amorfa.

Figura 1

Acción de diversas enzimas celulasas sobre la capa superficial de la celulosa



Nota. Descomposición de la estructura de la celulosa bajo la acción de celulasas. CBH I: Celulasa tipo I – endoglucanasa rompe enlaces internos de la cadena celulosa; CBH II: Celulasa tipo II Carbohydrate Binding Module: módulo de unión a carbohidratos; NR: Extremo no reductor; R: Extremo reductor Linker: enlazador. *Fuente.* Areeshi M, 2022.

La celulasa fúngica tiene principalmente dos dominios: el dominio catalítico (CD) y los dominios de unión de carbohidratos (CBD), conocido como unión de celulosa. Ambos dominios desempeñan funciones diferentes, mientras que el CBD ayuda en el proceso de unión de la enzima al sustrato, el CD es responsable de la reacción de hidrólisis (Singh et al, 2021).

Fermentación Enzimática

La fermentación es un proceso metabólico en el cual ocurre la degradación deshidrogenante de sustancias orgánicas por organismos o células bajo condiciones anaeróbicas, condiciones en las que se transfieren los electrones a metabolitos que se acumulan y se excretan en forma reducida. La fermentación sólo es posible si el organismo es capaz de obtener energía mediante este proceso (PAC, 1992).

La fermentación para la producción de enzimas celulasas de microorganismos fúngicos se pueden realizar de dos maneras: fermentación en estado sólido y fermentación sumergida. A

través de estos métodos los sustratos sólidos o líquidos son convertidos por estos microorganismos fúngicos en productos de alto valor agregado, útiles para el ser humano.

Durante la fermentación, el hongo secreta celulasas para descomponer la celulosa que está presente en el sustrato (Hernández – Melchor, 2019).

Sin embargo, Peciulyte (2014), reporta en su investigación que es necesario trabajar con varias enzimas con diferentes actividades para lograr una actividad eficiente para una hidrólisis enzimática eficiente de la celulosa, como son, las celulasas y hemicelulasas, pertenecientes al grupo de enzimas llamadas glicósido hidrolasas (GH).

Fermentación en Estado Sólido (SSF)

La fermentación sólida se lleva a cabo con materiales insolubles en agua como residuos vegetales que se acondicionan para el crecimiento de los microorganismos, utilizando sustratos como: salvado de trigo, bagazo de caña, pulpa de papel, residuos agroindustriales.

Este proceso a diferencia del SmF (Fermentación sumergida), cambia la morfología del hongo ya que durante el proceso de SSF, la cepa de hongos coloniza la superficie sólida creciendo en ella como una estera micelial, estas hifas son aéreas y penetran el espacio intra – partícula de material sólido (Singh, 2021).

Los hongos al tener en su estructura hifas alargadas ejercen presión mecánica sobre las estructuras de la celulosa que ayudan a los resultados de las actividades de la celulasa (Ghosh, 2021).

La viabilidad del uso de microorganismos en SSF, están especialmente enfocados hacia los hongos, bacterias, levaduras, etc, y se pueden emplear en condiciones aeróbicas o no aeróbicas, los microorganismos que tienen actividad de agua (A_w) más baja, como los hongos y las levaduras son adecuados para el proceso de SSF que los que tienen una (A_w) más alta como las bacterias (Singh, 2021).

Dentro de los hongos filamentosos como *Trichoderma sp.*, *Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.*, Humícola insolens y bacterias como *Bacillus sp.*, *Clostridium sp.*, *Cellulomonas sp.*, etc son los más utilizados para la producción de celulasas a través de SSF.

Fermentación Sumergida (SmF)

La fermentación líquida o sumergida, se aplica en procesos donde se utilizan materiales solubles en agua utilizados para la reproducción de microorganismos y la multiplicación de biomasa, utilizando sustratos como: melazas y caldos de cultivos que contienen sales minerales, vitaminas, azúcares, etc (Hernández – Melchor, 2019).

Los parámetros del proceso como el pH, la temperatura, la agitación, la aireación y la espuma son factores importantes que afectan el crecimiento de microorganismos y el rendimiento del producto se puede controlar fácilmente en el proceso SmF (Singh, 2021), Al igual que otro factor importante a tener en cuenta es la temperatura debido a que en la producción de enzimas afecta la tasa de crecimiento, la tensión de oxígeno disuelto, la tasa de evaporación del medio, la formación de pellets y del producto final.

Organismos Fúngicos

Los hongos filamentosos o mohos tienen la característica de tener en su estructura un soma vegetativo (talo) parecido al de las plantas, los cuales consisten en filamentos microscópicos alargados y ramificados, la mayoría constituida por quitina, además de otros polisacáridos como mananos, galactanos y quitosán, con una pared celular formada por carbohidratos (80-90%), y son las proteínas, lípidos, polifosfatos y iones inorgánicos el material cementante (Suárez-Contreras, 2021).

Además, los micelios de hongos filamentosos sintetizan y liberan grandes cantidades de enzimas hidrolíticas extracelulares, que ayuda a aumentar la accesibilidad de la celulosa en la estructura de la biomasa (Li W et al, 2022).

La obtención de enzimas mediante estos microorganismos se realiza preferiblemente a escala industrial ya que son fáciles controlar en sus diferentes etapas de fermentación.

Entre los hongos más destacados para el proceso de biodegradación de celulosa a partir de residuos agroindustriales, se encuentran algunos como: *Trichoderma reesei*, *Aspergillus niger*, *Penicillium*. Estos hongos producen celulasas que pueden descomponer la celulosa en azúcares más simples, lo cual es esencial para el reciclaje de biomasa lignocelulósica y aunque se reportan más organismos fúngicos productores de estas enzimas los que más resaltan son la especie de *T. reesei* y *A. niger* (Ghosh, 2021).

Los hongos de pudrición blanda, como *Trichoderma* y *Aspergillus*, tienen la capacidad de liberar grandes cantidades de proteína extracelular no compleja, lo que los hace ideales para la producción comercial de celulasas. Esto se debe a que su naturaleza facilita el proceso de extracción y purificación. Además, debido a su flexibilidad y versatilidad, estos microorganismos crecen de manera eficiente en sustratos de frutas, materiales celulósicos y vegetales (Areeshi M, 2022).

Residuos Agroindustriales

Las frutas y verduras son los alimentos que se consumen en su mayoría a nivel mundial debido a sus propiedades que generan por contener metabolitos secundarios como: fenoles, flavonoides, antioxidantes, fibras, vitaminas y minerales. La mayor parte de estos residuos agroindustriales se dan en la granja dando origen a pulpa de fruta, cáscaras, hojas de diversos orígenes, entre otros; los cuales contienen en su composición, la celulosa, hemicelulosa, lignina, almidón, pectina y otras fibras (Torres, 2020).

También se observa que en los procesos de transformación de la fruta no se aprovecha por completo debido a la insuficiente comprensión de sus valores nutricionales y económicos (Shillavi, 2018).

Es por lo anterior, que el uso de residuos agroindustriales como sustratos en procesos de fermentación ha sido una alternativa de aprovechamiento utilizando organismos fúngicos para la producción de esta enzima como es la celulasa, al ser la lignocelulosa el componente principal de la biomasa el cual es biodegradado por los hongos.

Los residuos orgánicos (arroz, frijón, maíz, ajo, tomate) tienen un buen comportamiento para ser usados como sustratos con los organismos fúngicos es en la fermentación en estado sólido (SSF), debido a que es de bajo costo, menor energía, mayor rendimiento de producción y asemeja el entorno natural de estos organismos (Torres, 2020).

De acuerdo con lo que indica el autor Torres (2020), el uso de residuos agroindustriales no solo ayuda al aprovechamiento de estos, también es una alternativa de producción de celulasas de bajo costo, efectiva, fácil de manejar y muy eficiente para la aplicación en diferentes áreas de la industria.

Importancia de la Composición Química de los Residuos Agroindustriales

La caracterización de la composición química de los residuos agroindustriales es esencial para evaluar su potencial de aprovechamiento en procesos biotecnológicos identificando los residuos ricos en carbohidratos como la celulosa y hemicelulosa que son ideales para la producción de enzimas celulasas y también de acuerdo con su contenido, aquellos residuos que contienen lignina pueden requerir tratamientos específicos para hacerlos accesibles a los procesos de fermentación. Es así como dependiendo del tipo de residuo a trabajar se evalúa que tan eficiente puede ser para ser utilizado como sustrato en la producción de celulasas, consultando algunos autores se recopilaron datos sobre algunos residuos que se han trabajado para la producción de estas enzimas en la tabla 1.

Tabla 1

Contenido químico de residuos agroindustriales

Residuo agroindustrial	Contenido químico (%)	Referencia
Cáscaras de piña	Lignina (19.4%) Celulosa (32.4%) Hemicelulosa (23.2%)	Ojha A, 2023
Hojas de piña	Lignina (13.05%) Celulosa (41.15%) Hemicelulosa (21.02%)	Ojha A, 2023
Racimos vacíos -residuo de palma de aceite	Hemicelulosa (69%) Lignina (22%) Celulosa (37% -50%)	Rodríguez I, 2007 Salleh, 2011
Orujo de manzana	Celulosa (22.9%) Lignina (18.2%) Hemicelulosa (9.9%) Azúcares reductores (18.2%) Proteína (3.8%)	Srivastava, 2021
Orujo de uva	Lignina (11.1%) Celulosa (7.5%)	Srivastava, 2021

Residuo agroindustrial	Contenido químico (%)	Referencia
	Hemicelulosa (4.5%) Cenizas (7.9%)	
Cáscaras de naranja	Celulosa (16.2%) Hemicelulosa (1.0%) Lignina (14.4%) Proteína (41.1%) Cenizas (1.7%)	Srivastava, 2021
Cáscaras de plátano	Celulosa (12%) Hemicelulosa (2.2%) Lignina (2.2%) Proteína (14%) Cenizas (9.2%)	Srivastava, 2021
Tallo de plátano	Celulosa (23.85%) Azúcar total (56.8%) Almidón (27%) Azúcar reductora (4.65%) Proteína (4.3%)	Srivastava, 2021
Paja de Maíz (fibra)	Celulosa (44.7%) Hemicelulosa (23.8%) Lignina (14.5%) Fibra (41.03%)	Srivastava, 2021
Bagazo de caña	Celulosa (40-50%) Hemicelulosa (25-35%) Lignina (20-25%) Cenizas: (1-4%)	Escudero, 2013
Cáscara de guanábana	Celulosa (44,89%) Hemicelulosa (12.31%) Lignina (30.64%)	Rojas-González, 2019
Cáscara de piña	Celulosa (35.32%) Hemicelulosa (37.60%) Lignina (11.16%)	Rojas-González, 2019

Nota. Contenido celulolítico de residuos agroindustriales. *Fuente.* Elaboración propia.

El contenido químico de los sustratos es una parte importante en el crecimiento de los hongos, debido a que la producción de celulasas necesita de una buena fuente de carbono, por esto los sustratos deben cumplir con ciertas características que favorezcan el buen crecimiento de los hongos.

La celulosa que está presente en todos los sustratos de origen vegetal, como se evidencia en la tabla 1, es una fuente clave de carbono para la producción de enzimas celulasas, así como la hemicelulosa que es un polisacárido complejo que aporta en este proceso de producción de enzimas. Algunos sustratos como el tallo de plátano y el orujo de manzana al igual que la caña de azúcar, contienen una fuente de carbohidratos solubles como los azúcares, glucosa, sacarosa o maltosa que suministran un rápido suministro de energía, al igual que los minerales y micronutrientes como el fósforo, azufre, magnesio, calcio y hierro son importantes para su crecimiento y metabolismo. También se evidencia la presencia de lignina en menor proporción en la composición de los sustratos, este es un componente importante en el proceso de producción de celulasas por hongos, que, aunque de una manera un poco más compleja que la celulosa, al ser este compuesto un polímero fenólico altamente resistente que forma parte de las paredes celulares de las plantas, aunque no es directamente degradada por las celulasas, si por otras enzimas que obligan a los hongos a producirlas como la ligninasas para descomponer la lignina y liberar la celulosa (Limayem et al, 2012).

Nisha (2021), indica que también a partir de desechos de frutas utilizado como sustrato se ha conseguido producir celulasas, debido a las características renovables, bajo contenido de lignina, la naturaleza orgánica y el bajo costo, puede ser de bastante interés para la industria de celulasas. Dentro de estos residuos se tiene: pulpa de manzana con 22.9% de celulosa, 5.2% hemicelulosa, 21.2% lignina; orujo de uva con un 56.6% de agua, 11.1% lignina, 7.5% de celulasas, 6.7% hemicelulosa; cáscaras de mandarina con un 10.7% de celulosa, 3.88% de

hemicelulosa, 1,91% de lignina; cáscaras de naranja 16.2% celulosa, 13.8% hemicelulosa, 1,0% de lignina; cáscaras de plátano con 12% de celulosa, 9.8% hemicelulosa, 2.2 % lignina y el tallo de la fruta del plátano con 23.85% de celulosa, 56,8% azúcar total y 27% de almidón, estos datos comparados con los residuos agroindustriales antes mencionados, son bajos pero son fuente rica de carbohidratos, proteínas y minerales que se pueden convertir en productos de valor agregado como enzimas de celulasa.

En la tabla 2, se indica la actividad enzimática de los diferentes sustratos de frutas que reportan actividad enzimática, como lo indica Srivastava 2021, teniendo en cuenta la actividad enzimática de celulasa total, y las actividades de las exoglucanasas y B-glucosidasas.

Tabla 2

Producción de celulasas con residuos agroindustriales

Residuos	Actividad enzimática
Residuos piña	FPasa 8.61 U/ml
Residuos Cítricos y mandarinas	CMCasa (655 U/ml); Exoglucanasas (412 U/ml); B-glucosidasa (515 U/ml).
Residuos Uva	FPasa 33.56 U/g
Residuos Manzana – cáscara arroz	Fpasa 133.68 UI/g; CMCasa 172.31 IU/g B-glucosidasa 60.09 IU/g

Nota. Valores de actividad enzimática. Tomado de: Srivastava (2021). *Fuente.* Elaboración propia.

En Colombia se produce más de 71 millones de toneladas de residuos al año, entre estos: caña panelera, arroz, café, maíz, palma de aceite, caña de azúcar, banano, de los cuales solo el 17% son aprovechados (Romero-Sáez, 2022). Todos estos residuos teniendo en cuenta los contenidos lignocelulósicos son una oportunidad de aprovechamiento para la producción de celulasas.

Pre-Tratamiento

El Pretratamiento que se realiza al sustrato se hace con el fin de obtener un mejor rendimiento y ser más eficaz en la obtención de enzimas, estos pueden ser físicos, mecánicos, térmicos, ultrasonidos, químicos, biológicos o combinados. El pretratamiento físico se realiza para reducir el tamaño del sustrato, entre los cuales están: trituración y molienda, también se encuentra la extrusión, tratamiento con vapor, y ayudar a mejorar la velocidad y eficiencia de la hidrólisis (Prieto et al, 2020). El tratamiento biológico lo hace el organismo fúngico durante el proceso de fermentación. El tratamiento por ultrasonido que es un tratamiento físico aplica ondas sonoras o radiación de alta energía (microondas) al sustrato, por medio del fenómeno de cavitación ayuda a romper las paredes celulares. Todos estos procesos mencionados anteriormente ayudan a realizar un mejor proceso enzimático.

Miranda Sosa (2019), enuncia varios pretratamientos tanto físicos como químicos realizados por diferentes autores para el tratamiento de diferentes sustratos, como lo muestra la tabla 3.

Tabla 3

Pretratamientos utilizados para sustratos agroindustriales

Sustrato	Pretratamiento	Organismo	Actividad enzimática Fpasa (U/g)	Actividad enzimática CMCasa (U/g)	Referencia
Racimos vacíos “raquis”	Químico: HNO ₃ 0.5%	<i>Trichoderma</i>	0.03	0.000	<i>Rodríguez I. (2007)</i>
	HNO ₃ 1.0%	<i>viride T12</i>	0.13	0.12	
	Biológico: (fermentación	<i>Trichoderma</i>	0.36(10 días)	1.53	
	<i>Pleurotus ostreatus</i>)	<i>viride T12</i>	0.37(20 días)	1.39	
Residuos de caña azúcar	Físico: Fragmentación mecánica –	<i>A Niger (CH2016)</i>		44.30	<i>Escudero (2013)</i>
		<i>A.Ochraceus</i>		43.73	

		(CH2001)		
	Químico:	(CH2016)	1.148UFP/gr	
	Organosolventes	(CH 2001)	0.832UFP/g	
	en suspensión			
	de etanol 50% y		B-glucosidasa:	
	NaOH 3% (v/v)		0.71	
	reactor de			
	presión			
Bagazo	Físico:	<i>A niger</i>	0.98	Sosa M (2019)
caña	Fragmentación -			
	disminución		0.25	
	tamaño			
	Químico:		34.6 BGL	
	Hidrólisis			
	alcalina H2=2 al			
	6% y NaOH			
	10M			
Broza de	Química	<i>A niger</i>	SSF 92,5	Lizarraga
café	Deslignificación		FPU/ml	(2021)
	NaOH 0,1 M al		SmF 78,72	
	3% 7 24 horas		FPU/ml	

Nota. actividad enzimática utilizando diferentes pretratamientos. *Fuente.* Elaboración propia.

La importancia de realizar el pretratamiento a los sustratos se debe a los enlaces químicos que tienen en su estructura, con el fin de debilitarlo, para disminuir la cristalinidad de la celulosa y aumentar la porosidad del material para exponer las fibras a las enzimas para la hidrólisis, teniendo en cuenta que la lignina cumple el papel de adhesivo de unión entre la hemicelulosa y la celulosa, lo que hace más difícil la degradación (Hua Yunzi et al, 2023).

De estos tratamientos el más utilizado es el pretratamiento físico el cuál es una etapa clave para hacer que los sustratos lignocelulósicos sean más adecuados para la fermentación o para la acción de enzimas como las celulasas, facilitando la despolimerización de los polisacáridos estructurales, promoviendo una mayor producción de azúcares fermentables o una mayor eficiencia en la producción de enzimas. Estos azúcares liberados, como la glucosa, son fundamentales como fuente de carbono en los procesos de fermentación que llevan a la

producción de celulasas y otras enzimas industriales (Hua Yunzi et al, 2023).

El sustrato es una variable importante a tener en cuenta, debido a su estructura y composición, en el caso de la corona de piña el pretratamiento que se realiza allí es químico, debido a su composición química ya que contiene 39.52% de carbono, 5.51% hidrógeno, 13.82% de nitrógeno y 0.46% de azufre, y mediante la hidrólisis ácida se recuperan los nano cristales de celulosa de fibras de piña derivadas de las coronas de la piña como lo indica Ojha A (2023).

En cuanto a los residuos de palma, Rodríguez (2007), en su investigación reporta el uso de tratamiento químico mediante soluciones ácidas combinadas con tratamiento biológico utilizando Hongo *Pleurotus ostreatus* con el fin de disminuir la cristalinidad de la celulosa de los materiales lignocelulósicos de los residuos y facilitar el crecimiento de los hongos productores de celulasas.

Analizando el contenido de lignina en la tabla 1, se identifica una mayor contenido para los residuos de palma, bagazo de caña y residuos de maíz con un 20-23% a diferencia de los residuos frutales como, cáscaras de naranja, orujo de uva, cáscaras de piña, orujo de manzana que su contenido de lignina oscila entre un 3 a 18%, por lo cual los pretratamientos para los residuos de palma, bagazo de caña, residuos de maíz se utilizan tratamientos químicos como la hidrólisis alcalina, para sustratos con bajo contenido de lignina y alto contenido de hemicelulosa y celulosa amorfa se utiliza la hidrólisis ácida.

Sosa Miranda (2019) en su estudio indica que comparando varios sustratos como, bagazo de caña, bagazo de sorgo, cáscaras de arroz y paja de cebada, para la producción de celulasas de *Aspergillus niger* ITV-02, el sustrato que mayor porcentaje de deslignificación mostro fue el rastrojo de maíz lo que permitió que la estructura lignocelulósica fuera más porosa y accesible para *A. niger* ITV-02, lo que favoreció una mayor producción de celulasas, utilizando pretratamientos químicos.

Organismos con Capacidad Celulolíticas

Una forma sustentable y económica de producir las enzimas celulasas es utilizando material lignocelulósico que se encuentra en los residuos agroindustriales, según reportes de artículos científicos, los organismos que mejor se comportan para la producción de estas enzimas son los hongos, especialmente las especies fúngicas aeróbicas para producir celulasas libres con una mayor actividad y es fácil de recuperar las especies enzimáticas activas individuales (Areeshi M, 2022).

Muchos organismos fúngicos han sido estudiados y utilizados para producir celulasas principalmente debido a su eficacia en la degradación de celulosa y su capacidad para crecer en diversos sustratos lignocelulósicos, entre ellos, los géneros *Clostridium*, *Cellulomonas*, *Thermomonospora*, *Trichoderma* y *Aspergillus* son los productores de celulasas más estudiados.

Los términos de capacidad celulolítica utilizados como lo muestra (Kuhad et al,2011) corresponden a los organismos fúngicos que realizan la descomposición de la materia orgánica, especialmente en el contexto de la madera y otros materiales vegetales. Están asociados a microorganismos con capacidad celulolíticas, que son capaces de descomponer la celulosa y otros componentes de la pared celular de las plantas.

Para el uso de estas enzimas en la industria de alimentos, es importante identificar aquellos organismos que degraden la celulosa de manera eficiente y que trabaje específicamente sobre sustratos de materia orgánica que es el interés en esta revisión bibliográfica.

Trichoderma Reesei

Estas especies como lo indica Hernández- Melchor (2019), es una especie que viven en ecosistemas terrestres, con bajo requerimiento nutrimental, en un rango de temperatura (25 - 30°C) que se desarrolla en su hábitat y que influye en su crecimiento, esto hace que se adapten fácilmente a condiciones ecológicas y puedan crecer de manera saprofitica, interactuando con

animales y plantas, lo anterior hace que pueda desarrollarse en diferentes sustratos. Estos organismos son capaces de degradar celulosa y producir un complejo de celulasas con diferentes especificidades y modos de acción, entre ellas se encuentran: endo-1,4 – p-glucanasas, celobiohidrolasas, exoglucanasas y p-glucosidasas.

Trichoderma spp, es un hongo degradador de celulosa que secreta grandes cantidades de enzimas hidrolíticas, como xilanasas, celulasas, quitinasas, glucanasas en condiciones y adecuadas y antibióticos. Este organismo fúngico tiene la capacidad superior para movilizar y absorber nutrientes del suelo en comparación con otros organismos, es un hongo de crecimiento rápido ya que puede utilizar diferentes compuestos orgánicos como nutrientes (Ursula et al, 2014).

Kuhad et al (2011), menciona dentro de la clasificación de microorganismos con capacidad celulolítica, que el *Trichoderma reesei*, es un hongo de podredumbre blanda, debido a que descompone la lignina y la celulosa dejando un material más blanquecino y ligero, haciendo más fácil la acción de enzimas celulolíticas (como la celulasa). Ya que, si la lignina no se degrada adecuadamente, la eficiencia del proceso de hidrólisis se ve reducida, y las enzimas no pueden acceder a la celulosa de manera efectiva, lo que hace que el proceso sea más costoso y menos eficiente.

De este organismo fúngico se caracterizaron dos exoglucanasas (CBHI y CBHII), cinco endoglucanasas (EGI, EGII, EGIII, EGIV y EGV) y dos β -glucosidasas (BGLI y BGLI) (Ghosh et al, 2021).

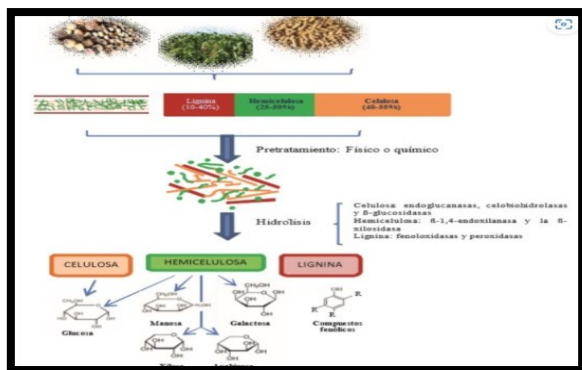
Metabolitos Secundarios

Diversas especies de este género están asociadas con la rizosfera de plantas o pueden relacionarse de manera endofítica, lo que promueve el crecimiento y desarrollo de las plantas, mediante la producción de auxinas y giberelinas; también pueden producir ácidos orgánicos (glucónico, fumárico y cítrico) que pueden disminuir el pH del suelo y propiciar la solubilización de minerales vitales para el metabolismo vegetal (Hernández – Melchor, 2019).

Hernández – Melchor (2019), ha demostrado que el organismo fúngico *T. reesei* produce diferentes tipos de celulasas a partir de residuos lignocelulósicos, como se muestra en la figura 2, los productos de la hidrólisis enzimática de este género fúngico donde los diversos metabolitos secundarios son utilizados en diversas aplicaciones.

Figura 2

Productos de la hidrólisis enzimática de Trichoderma reesei con residuos lignocelulósicos



Nota. Productos de la acción enzimática de *T. reesei*.

Los metabolitos secundarios como se indica en la figura 2, como la glucosa, mannososa, galactosa, arabiosa, compuestos fenólicos derivan dependiendo del compuesto a descomponer y los cuales se utilizan en la producción de compuestos químicos y medicamentos, en el caso de los compuestos fenólicos producidos por la degradación de la lignina por tener propiedades antioxidantes y antimicrobianas, los hace útiles en la industria alimentaria, farmacéutica y cosmética.

Aspergillus Niger

Considerado como un organismo fúngico superior a muchos otros organismos debido a su capacidad de producción de β -glucosidasa extracelular, ya que su actividad enzimática es importante frente a la celobiosa. Una característica importante de este organismo es que puede resistir condiciones adversas, como cambios en la temperatura y el pH, lo que facilita su proliferación en diversos entornos. Así como el *T. reesei* este hongo es saprófago, capaz de descomponer una variedad de compuestos orgánicos, lo que le permite crecer en diferentes ambientes (Gutiérrez -Rojas, 2015).

Este organismo tiene una notable capacidad enzimática lo que le permite descomponer una variedad de sustratos orgánicos y producir enzimas como son: amilasas, proteasas, celulasas, pectinasas, lacasas y peroxidasas (Gutiérrez- Rojas, 2015)

Estos hongos filamentosos comúnmente utilizado en la industria biotecnológica, especialmente en procesos de fermentación para la producción de celulasas, tiene ciertas características como las enuncia Reddy (2015), en su morfología tiene una estructura filamentosa que produce esporas a través de conidióforos. Estas esporas son de color negro, lo que da el nombre al hongo, es un hongo saprófito que se encuentra comúnmente en ambientes ricos en materia orgánica, como el suelo y los productos vegetales en descomposición.

Penicillium

Vaishnav et al, 2018, en su artículo menciona que este organismo ha tomado gran reconocimiento por ser potente en producción de celulasa, ya que siempre ha sido reconocido por su capacidad de producir antibióticos conocido como penicilina, sin embargo, en la década pasada se han encontrado con artículos de investigación que reportaron un hongo *Penicillium Crisoporio*, que produjo una mezcla de enzimas complejas, como la celulasa, la ligninasa y la hemicelulosa lo que permitió una degradación eficiente de la lignocelulosa. Así como este

organismo se han encontrado dentro de su especie organismo que producen cinco celulasas diferentes, lo que lo hace fuerte frente al *T. reesei* quien ha sido el organismo más reconocido por su producción de celulasas.

Cuando se agregan FPU (Filter Paper Unit) de celulosa similares de ambas cepas para la hidrólisis de biomasa, la celulosa de *Penicillium* resulta ganadora debido a proporciones más altas de β -glucosidasa a exoglucanasas (Vaishnav et al, 2018), es decir, este organismo, además de romper las cadenas de celulosa en fragmentos más pequeños, también tiene una mayor capacidad para convertir estos fragmentos en glucosa, lo que mejora el rendimiento en el proceso de conversión de celulosa.

Ghosh (2021) indica que, dos cepas de *Penicillium*, *Penicillium sp. GZ-2* y *Penicillium TG2*, se ha reportado ser más eficiente en la producción de enzimas celulolíticas e hidrólisis enzimática en comparación con *T. reesei* RUT-C30 durante el crecimiento en residuos agrícola.

Al igual que el *Trichoderma reesei*, tanto el *Aspergillus niger* como el *Penicillium* son hongos de podredumbre blanda que al contrario de la podredumbre parda y podredumbre blanca son capaces de degradar la lignina, como menciona Kuhad et al 2011, los hongos de podredumbre parda y blanda solo descomponen la celulosa y la hemicelulosa dejando restos lignificados y una estructura fibrosa.

Estudios Realizados en Producción de Celulasas

Las enzimas celulasas tienen un gran potencial industrial, inicialmente se utilizaban para la producción de biocombustibles, pero se ha encontrado que estas enzimas son muy versátiles y se han empezado a aplicar en diferentes áreas como: textiles, industria alimentaria, elaboración de cerveza, industria de pulpa y papel y también en la agricultura. Actualmente se ha centrado al conocimiento actual de producción de celulasas y a los desafíos en la investigación de estas, especialmente en la dirección de mejorar la economía en los procesos de diferentes industrias

(Kuhad et al,2011).

A continuación, en la tabla 4, se reportan las investigaciones más representativas en la producción de celulasas con diferentes sustratos y experimentos.

Tabla 4

Reporte de uso de microorganismos para producción de celulasas

Organismos	Investigación	Actividad enzimática	Referencia
<i>Aspergillus niger</i>	Purificación de celulasas	79.4 U/ ml FPasa	Sorour A, Zakia A, Moustafa Y, El-Naggar, Safaa M. (2023)
<i>Trichoderma reesei</i> Rut C-30	Producción enzimática teniendo en cuenta las características físicas y estructurales de los sustratos celulósicos.	Fibras de pulpa.3.5 FPU / ml. Avicel: 21.7 UI/ml - 1 (endoglucanasas)	Peciulyte A, Anasontzis G, Karlstrom K, Larsson T, Olsson (2014)
<i>T. reesei</i> , <i>A. niger</i> , <i>Penicillium funiculosum</i> , <i>Trichoderma harzianum</i> , <i>Trichoderma viride</i>	Biodegradación de biomasa lignocelulósica con el uso de microorganismos fúngicos. (cocteles enzimáticos)	≥ 1000 U/g ~ 800 U/g	Yunzi Hu, Anshu Priya, Chao) Chen, Cuiyi Liang, Wen Wang, Qiong Wang, Carol Sze, Wei Qi. (2023)

Nota. Producción de celulasas. *Fuente.* Elaboración propia.

Se realizó la revisión de estos artículos científicos y otros reportados, y se encontró que los organismos fúngicos más utilizados en la producción de celulasas son el *T. reesei* y el *A. Níger*, sin embargo, otros organismos del género *Penicillium* han sido trabajados en esta área, teniendo en cuenta que su capacidad de producción de enzimas es diferente al de los géneros de *Trichoderma* y *Aspergillus*.

Escudero (2013), enuncia que una de las características específicas del género *Trichoderma* es su alta capacidad para secretar enzimas celulolíticas, entre ellas endoglucanasas, exoglucanasas y β -glucosidasas, al igual que el género *Aspergillus* en comparación con el género *Penicillium* su producción de celulasas es menor, pero son muy versátiles y pueden crecer en varios sustratos.

Al analizar las investigaciones reportadas en la tabla 4, se indica la importancia de la síntesis de las enzimas fúngicas (celulasas), ya que determina la viabilidad económica del proceso, realizando la revisión de los artículos se encuentra que se ha producido un número considerable de celulasas a partir de especies fúngicas como *Aspergillus*, *Penicillium sp*, *Aspergillus niger*, *Trichoderma reesei*, *Trichoderma viride*, *Trichoderma longibrachiatum*, buscando desarrollar en la industria producir enzimas a bajo costo con altos rendimientos y productividad, lo cual se ha logrado utilizando sustratos de biomasa vegetal rica en celulosa correspondiente a la podredumbre blanca como: madera, residuos agrícolas, hojas, ramas, biomasa que se descompone en el suelo y contribuye al ciclo de nutrientes.

Fermentación en Organismos Fúngicos

Producción de Enzimas más Eficiente

Santos, (2021) indica que, en la SSF, los hongos producen mayor cantidad de enzimas como las celulasas, debido a las condiciones de bajo contenido de agua y alta presión de oxígeno, que favorecen la síntesis de enzimas extracelulares, en este tipo de fermentación, la SSF requiere menos energía, ya que no es necesario mezclar constantemente ni airear grandes volúmenes de líquido como en la SmF. Además, se puede usar sustratos agroindustriales como residuos sólidos (bagazo, cáscaras, paja), lo que puede reducir los costos de materia prima.

Hernández – Melchor (2019), indica que, en la SSF, se pueden utilizar sustratos insolubles como residuos agrícolas o agroindustriales, que son degradados eficientemente por los

hongos para producir productos de valor añadido como las enzimas y suele ser menos susceptibles a la contaminación bacteriana, ya que las condiciones de bajo contenido de agua no son ideales para el crecimiento de bacterias, lo que simplifica el manejo del proceso.

La fermentación sólida (SSF) se considera más adecuada que la (SmF) para organismos fúngicos teniendo en cuenta la revisión bibliográfica, donde se encuentran varios puntos a tener en cuenta, como lo es, las condiciones naturales de los hongos que suelen crecer en condiciones naturales que imita más de cerca a la SSF como en suelos, madera, hojas en descomposición, ya que requieren bajos niveles de humedad, la SSF recrea mejor su hábitat natural, lo que promueve su crecimiento y actividad metabólica (Hernández – Melchor, 2019).

La fermentación sumergida a diferencia de la fermentación en estado sólido (SFF), donde los microorganismos se cultivan sobre un sustrato sólido (residuos agrícolas), en esta fermentación los microorganismos están completamente sumergidos en el medio líquido, lo que permite una mayor disponibilidad de nutrientes y control sobre las condiciones del proceso.

Liao (2018), reporta el uso de este tipo de fermentación cuando se requiere una alta concentración de enzimas y se realiza en un medio líquido, generalmente enriquecido con carbohidratos complejos, como la celulosa y otros nutrientes esenciales.

Tabla 5

Comparativa entre variables de SSF - SmF

Característica	Fermentación en estado sólido (SSF)	Fermentación sumergida (SmF)
Sustrato	Sólido (residuos agrícolas)	Líquido (medio líquido enriquecido)
Crecimiento microbiano	Sobre la superficie del sustrato sólido	Completamente sumergidos en el medio líquido
Disponibilidad de nutrientes	Menor	Mayor
Control del proceso	Menor	Mayor

Temperatura	25°C – 30°C (óptima para <i>Trichoderma sp</i>), 30°C – 40°C (dependiendo de especie)	25°C – 30°C (óptima para la mayoría hongos)
Tamaño de la partícula	Crucial, muy pequeño causa aglomeración, menor tamaño proporciona mayor área de contacto hifa-partícula (circulación de aire 20 – 60%)	No es factor crítico
Nivel de humedad	Crítico; debe ser suficiente para el crecimiento microbiano. Bajo contenido reduce solubilidad de nutrientes, alto contenido crea barrera de difusión.	No es un factor directo, el medio es líquido
pH	Óptimo entre 4.5 – 6.0 (ligeramente ácido para hongos)	Óptimo entre 4.5 – 6-0 (dependiendo de la especie de hongo)
Fuente de Carbono y Nitrógeno	Los sustratos lignocelulósicos proporcionan carbono, pero puede requerir adición de C o adicional. Relación C: N crucial.	Puede requerir fuentes adicionales de C (glucosa, sacarosa) o N (amoníaco, sales de nitrógeno). Relación C: N crucial.
Oxígeno disuelto	Circulación de aire importante (20-60% del volumen total)	La transferencia de oxígeno es crítica; la agitación/aireación mantiene niveles óptimos
Condiciones de inóculo	N/A	Concentración y viabilidad del inóculo afectan la eficiencia de la fermentación.
Agentes inductores	N/A	Celulosa microcristalina, CMC o lignina pueden inducir la producción de celulasas. Alto contenido de celulosa en el sustrato actúa como inductor natural.
Control de contaminantes	Importante para no afectar el rendimiento	Importante para no afectar el rendimiento

Nota. Variables que se manejan en SSF – SmF. *Fuente.* Elaboración propia.

Condiciones experimentales en Fermentación en Sólido (SSF) y Fermentación Sumergida (SmF)

Sustrato

La concentración del sustrato de residuo vegetal disponible (residuos de la industria agrícola) influye en la producción de celulasas. Un exceso de sustrato puede causar una limitación de nutrientes y una acumulación de productos secundarios, mientras que una concentración muy baja puede no ser suficiente para inducir una alta producción de enzimas.

Disponibilidad de Nutrientes

Para la SSF es menor debido a que toma los nutrientes del sustrato directamente asemejando su hábitat natural lo que facilita el crecimiento y desarrollo del hongo, entre ellos los hongos de podredumbre blanda. (Kuhad et al, 2011) a diferencia del SmF que se desarrolla en un ambiente líquido y debe complementarse con otros nutrientes.

Control del Proceso

Para la SmF el control es mayor debido a que los organismos fúngicos están completamente sumergidos en medio líquido, por lo que se debe controlar la temperatura y la concentración de oxígeno disuelto, que se realiza mediante el sistema de agitación y aireación esencial para el metabolismo microbiano y la producción de celulasas, lo que contribuye a una mayor consistencia en la producción de enzimas (Singh, 2021), a diferencia del SSF al ser menor la falta de control por las condiciones en que se realiza puede resultar en un crecimiento irregular de los organismos fúngicos y afectar negativamente la capacidad de producir las enzimas deseadas que resulta en rendimientos enzimático más bajos en comparación con la fermentación (SmF).

Temperatura

Los estudios reportados por Areeshi M (2022), indica que una temperatura de incubación para la producción óptima de celulasas, se encuentra en un rango entre 25 – 30°C, aunque Sosa, (2019), indica un reporte de temperatura entre 30 – 40°C dependiendo de la especie, sin embargo la temperatura de 30°C es la máxima producción de celulasa por *Trichoderma sp*, posteriormente un mayor aumento de la temperatura disminuye el rendimiento, esto se puede dar que además del calor generado desde la fuente externa, puede haber generación de calor desde el interior, asociado con la reacción metabólica, que generalmente se libera durante el crecimiento microbiano en condiciones aeróbicas.

Tamaño de la Partícula

Esta es una variable crucial para la producción de celulasa a través de SSF, ya que una mayor superficie de partícula de sustrato depende el crecimiento del microorganismo, Areeshi M (2022). menciona que, a pesar de tener una mayor superficie, un tamaño de partícula de sustrato demasiado pequeño puede causar aglomeración e interferencia con la respiración microbiana, lo que conlleva a un crecimiento deficiente, sin embargo, Torres (2020) indica que cuanto menor es el tamaño de la partícula del sustrato, tiende a proporcionar un área mayor para el contacto entre la hifa y la partícula, lo que logra una mayor circulación de aire (generalmente debe existir una circulación entre el 20% - 60% con relación a su volumen total)

Nivel de Humedad

Este tipo de fermentación SSF se trabaja con sustratos lignocelulósicos, estos sustratos deben tener suficiente humedad para promover el crecimiento y la actividad metabólica del microorganismo, de lo contrario no dará un rendimiento adecuado en el proceso. (Sosa, 2019).

El nivel de humedad es una variable crítica para controlar debido a que en caso de que la producción de celulasas se realiza con bajo contenido de humedad y alta tensión hídrica, se suele

notar una menor solubilidad de los nutrientes y una menor hinchazón del sustrato, mientras que, en caso de una alta humedad, la presencia de exceso de agua libre crea una barrera de difusión adicional que disminuye el rendimiento enzimático (Areeshi M, 2022).

A diferencia de SmF, no es un factor relevante debido a que su medio es sumergido y se utilizan mezclas de nutrientes que ayudan a la multiplicación de biomasa (Hernández- Melchor, 2019).

Ph

Los microorganismos fúngicos que producen celulasas, como *Trichoderma spp*, *Aspergillus spp.*, y otros hongos, generalmente tienen un rango de pH óptimo para la producción de estas enzimas cuando se cultivan en sustratos vegetales. Este rango de pH puede variar dependiendo de la especie de hongo, pero en general, el pH óptimo para la producción de celulasas por hongos se encuentra entre 4.5 y 6.0, los hongos que producen celulasas generalmente prefieren ambientes ligeramente ácidos (Yoon L. et al, 2014).

Fuente de Carbono y Nitrógeno

Aunque los sustratos vegetales proporcionan una fuente de carbono (en forma de celulosa), puede ser necesario añadir fuentes adicionales de carbono (glucosa, sacarosa) o nitrógeno (amoníaco, sales de nitrógeno) para apoyar el crecimiento óptimo y la producción de celulasas. La relación carbono: nitrógeno (C: N) es crucial para la expresión de enzimas celulosas, con una proporción adecuada favoreciendo la síntesis enzimática.

Oxígeno Disuelto

En la SmF, la transferencia de oxígeno es crítica. Los hongos requieren oxígeno para crecer y producir celulasas. El oxígeno disuelto puede limitar la tasa de crecimiento y la producción en cultivos de fermentación sumergida si no está bien controlado. El uso de agitación y/o aireación adecuada ayuda a mantener niveles óptimos de oxígeno.

Condiciones de Inóculo

La concentración y la viabilidad del inóculo (microorganismo inicial) afectan la rapidez y la eficiencia con que el hongo coloniza el sustrato y comienza a producir enzimas. El inóculo debe estar en condiciones óptimas de salud y crecimiento para asegurar una fermentación exitosa.

Agentes Inductores y Reguladores

En algunos casos, indica Nisha (2021) se pueden utilizar compuestos específicos para inducir la producción de celulasas, como: celulosa microcristalina, carboximetilcelulosa (CMC), o lignina pueden servir como inductores, activando la producción de celulasas en respuesta a la presencia de estas sustancias. El uso de inductores debe ser controlado para evitar una sobrecarga o inhibición del sistema enzimático. Aunque si el sustrato tiene un alto contenido de celulosa, este como tal, ya es un inductor natural haciendo un proceso con alto rendimiento (León-Revelo, 2018).

Control de Contaminantes

Es importante mantener condiciones que minimicen el riesgo de contaminación microbiana no deseada, que podría competir con los microorganismos productores de celulasas, reduciendo así la producción y la calidad de las enzimas.

Cada organismo fúngico desarrolla una actividad enzimática específica debido a su capacidad de producción, en el caso de *A. niger* este organismo destaca por su alta producción de β -glucosidasa extracelular que le permite descomponer varios sustratos orgánicos. En un estudio de Escudero (2013), trabaja con *Aspergillus spp*, donde utiliza como sustrato residuos agrícolas de cosecha de caña de azúcar (RAC), el autor evaluó las tres actividades enzimáticas: Endoglucanasas, Exoglucanasas, y β -glucosidasas, en procesos de SSF donde los sustratos fueron tratados con organosolventes y sin pretratamiento.

A continuación, se reportan resultados de actividad enzimática de varios autores en la
Tabla 6:

Tabla 6*Actividad enzimática tipo fúngico*

Hongo	Género	Enzima	Sustrato	Método de producción	Celulosa total / Actividad enzimática	Referencial
CH 2016	<i>Aspergillus</i> spp	Celulasas	Residuos de caña de azúcar	SSF	CMCasa: 11.0773 U/mL Exoglucanasas: 0.042 U/mL FPasa: 11.0773 U/mL	Escudero et al., 2013
CH 2001-	<i>Aspergillus</i> spp	Celulasas	Residuos de caña de azúcar	SSF	Glucosidasas: 0.1778 U/mL	
ASZ1-	<i>Aspergillus</i> spp	Celulasas	Sustrato enriquecido con urea, almidón, extracto de levadura y minerales	SmF	4 U/mL	
ASZ3-	<i>Aspergillus</i> spp	—	Sustrato enriquecido con urea, almidón, extracto de levadura	SmF	4.41 U/mL	Sorour et al., 2023
ASZ6-	<i>Aspergillus</i> spp	—	Sustrato enriquecido con urea, almidón, extracto de levadura, minerales	SmF	3.89 U/mL	
—	<i>Aspergillus niger</i>	Celulasas	Pulpa de manzana	—	Glucosidasas: 60.09 UI/gds FPasa: 133.68 UI/gds CMCasa: 172.31 UI/gds	Singh et al., 2021
—	<i>Aspergillus niger</i>	Celulasas	Salvado de trigo	—	Glucosidasas: 33.0 U/gds FPasa: 17.0 UI/gds CMCasa: 310.0 U/gds	
—	<i>Aspergillus niger</i>	Celulasas,	—	SSF	FPasa: 64 UI/gMS	León-Revelo et al., 2018
<i>Penicillium</i> sp. FSDE15	<i>Penicillium</i> sp.	Celulasas	Salvado de trigo (50%)	SSF	CMCasa: 21.11 U/g FPasa: 0.74 U/g	Felipe Augusto Santos et al., 2021
—	—	—	Mazorca de maíz (50%)	SSF	CMCasa: 1.29 U/g FPasa: 0.27 U/g	
—	—	—	Salvado de trigo	SSF	CMCasa: 8.72 U/g FPasa: 0.42 U/g	
—	<i>Aspergillus niger</i>	Celulasas	Residuos de palma	SSF	FPasa: 0.149 UI/mL CMCasa: 0.329 UI/mL Celobiosa: 0.148 UI/mL	Manjarres Katherine et al., 2011
<i>Aspergillus niger</i> ITV-02	<i>Aspergillus niger</i>	Celulasas	Bagazo de sorgo (deslignificado)	SSF	CMCasa: 0.032 U/mL β-glucosidasa: 4.01 U/mL FPasa: 0.128 FPU/mL	Miranda Sosa, 2019

Hongo	Género	Enzima	Sustrato	Método de producción	Celulosa total / Actividad enzimática	Referencial
<i>Trichoderma</i> sp.	<i>Trichoderma</i> sp.	Celulasas	Racimos vacíos de palma de aceite	SSF	FPasa: 0.374 U/mL LCMCasa: 0.776 U/mL	Rodríguez I et al., 2007
<i>Penicillium funiculosum</i>	<i>Penicillium</i> spp.	Celulasas	<i>Moringa oleifera</i>	SmF	Endoglucanasas: 606 U/ Exoglucanasas: 205 U/I	Vásquez E et al., 2020
<i>Fusarium verticillioides</i>	<i>Fusarium</i> spp.	—	<i>Moringa oleifera</i>	SmF	β-glucosidasa: 664 U/I	

Nota. Producción de celulasas. *U/ml: Unidad por mililitro; UPF/mL: Unidad por mililitro proteína total, ASZ (código de aislamiento *Aspergillus niger*); UI/gds: actividad enzimática por gramo de muestra; (UI/gPV⁻¹): Coeficiente de deformación enzimática asociada al crecimiento. *Fuente.* Elaboración propia.

Tabla 7*Comparativos organismos fúngicos*

Organismo	Producción celulasas Fpasa -	Producción de CMCasa	B-glucosidasa
<i>T. reesei</i>	Alta	Alta (+)	Alta (+)
<i>A. niger</i>	Moderada (destaca más en la producción de hemicelulasas y β - glucosidasas que en celulasas totales).	Alta (+)	Alta (+)

Nota. Organismos fúngicos productores de celulasas.

Los diversos estudios realizados con organismos fúngicos se evidencian que los resultados son diversos, dependen del pre- tratamiento y las variables con las que se trabaje para la fermentación y dependiendo del tipo de fermentación que se utilice. Las variables que tienen en cuenta estos autores son, la temperatura, tipo de sustrato, pH, inductores presentes en el proceso esto depende de la composición lignocelulósica de los sustratos a utilizar, agitación si es una SmF, el tipo y tamaño de inóculo.

León – Revelo (2018), reporta en su estudio una eficiencia metabólica de la cepa *A. niger* de la proteasa para una temperatura óptima se encuentra entre 25 a 40°C, aunque la proteasa es una enzima que hidroliza proteínas, junto con las celulasas se evalúa una capacidad metabólica total sobre el sustrato lignocelulósico, y el alto nivel de actividad proteasa indica un metabolismo fúngico robusto y eficiente en la degradación de materia orgánica compleja por parte de este organismo lo cual es un dato importante, mientras que el *T. reesei* trabaja con temperaturas sobre los 30°C (Rodríguez I, 2007) quien también reporta el uso de pre

tratamientos a sustratos con *Pleurotus ostreatus* como tratamiento biológico favoreciendo el crecimiento de los hongos productores de celulasas.

Sorour (2023) en su estudio indica que la síntesis completa de celulasa se alcanzó después de 74.27 horas de fermentación a 31.22°C y las enzimas fueron extremadamente resistentes a una

amplia gama de temperaturas (35 a 70°C) y valores de pH (3 -9), el estudio se realizó con *A.niger* utilizando SmF.

Lo que indica los anteriores estudios es que estos organismos tienen una alta resistencia a temperaturas y pH, como lo reporta Santos (2021), quien en su estudio con *Penicillium* reporta el uso de pH en rangos de 3 a 8. Esta resistencia de los organismos fúngicos se debe a su crecimiento natural en condiciones extremas siendo para el *T. reesei* su crecimiento en rango de pH entre 4 a 8, sin embargo, la producción de enzimas puede verse afectada.

En cuanto a los inductores que favorecen la producción de celulasas, los sustratos que más se incluyen son, bagazo de caña de azúcar, paja de trigo, paja de maíz, subproductos de la industria azucarera debido a su gran contenido de celulosa, como también residuos de la industria maderera.

Otro punto a tener en cuenta es que las industrias prefieren la producción de estas enzimas por el SmF, argumentando que es un procedimiento que se puede controlar y monitorear al contrario de la SSF, la SmF tiene la facilidad de las operaciones y los sistemas controlados, la fácil recuperación del producto y la reproducibilidad de los parámetros del proceso, debido a que la temperatura, el pH, la aireación, la agitación y la producción de espuma, afectan la productividad general del proceso y el crecimiento de los organismos productores de celulasas que se pueden monitorear fácilmente en este proceso de fermentación (Ranjan et al, 2023).

Ranjan (2023), indica que la fermentación que mayor costo se maneja para la producción de esta enzima es la SmF, donde su costo esta aproximadamente \$20/Kg, sin embargo, para el SSF el costo fue de solo \$0.2/kg. Según su estudio de mercado mundial de celulase (2020), el mercado está valorado en 1.68 mil millones de dólares estadounidenses en 2020 y prevé que alcance los 2.45 mil millones de dólares estadounidense para fines de 2026.

Areeshi M (2022), reporta que los residuos agrícolas son una opción cómoda y barata de producir enzimas y biocombustibles cuando se emplean como sustratos, actualmente las industrias utilizar un sustrato celulósico comercial llamado “avicel” , lo que hace que la producción de enzimas sea un 40% más costoso, es por esto que en la búsqueda de buscar un sustrato adecuado, potencial y de bajo costo sea una alternativa de investigación y además ayuda a gestionar el problema ambiental que se presenta actualmente por estos residuos agrícolas que no se aprovechan al máximo.

De acuerdo con lo anterior, la producción de celulasas mediante fermentaciones con hongos y residuos agroindustriales presenta una viabilidad técnica y económica respaldada por los estudios que se muestran en esta investigación. A continuación, se analizan los aspectos claves:

Viabilidad Técnica

Eficiencia de Organismos Fúngicos

Trichoderma Reesei y Aspergillus Niger. Son los hongos más utilizados por su alta capacidad para secretar celulasas, son hongos filamentosos. En el caso de *A. niger* produce hasta 92.500 FPU/ml en fermentación sólida (SSF) usando broza de café como sustrato, (Lizarraga et al, 2020), así como en otras especies de *A. niger* se encuentra en sustratos como se muestra la tabla 4, para residuos de caña de azúcar 11.0773 U/ml de producción de enzimas (Escudero et al,

2013). En el caso de *T. reesei*, este es reconocido mundialmente por ser el principal productor de celulasas a nivel industrial, capaz de alcanzar actividades superiores a 100.000 FPU/L en fermentación sumergida (SmF) (Singh, 2021). La capacidad de la cepa *A. niger* de producir simultáneamente celulasas y proteasas puede hacer más rentable y versátil el proceso, facilitando el aprovechamiento integral de residuos agroindustriales (León- Revelo, 2018). Por lo anterior, estos organismos fúngicos son los que mejor reportan producción de enzimas celulasas y se puede optimizar utilizándolos juntos.

Adaptación a sustratos lignocelulósicos

Residuos como bagazo de caña de azúcar, paja de maíz y cáscaras de frutas han demostrado ser efectivos como fuentes de carbono. Estos sustratos contienen entre 30 – 50% de celulosa, ideal para inducir la producción enzimática (Lizarraga et al, 2020). Además, el sustrato proporciona tanto la superficie como los nutrientes necesarios para el crecimiento de hongos (Singh et al 2021). En Colombia se desechan altos residuos lignocelulósicos como cáscaras de piña, bagazo de piña, cáscaras de frutales que solo se aprovechan el 17% y por su alto contenido de carbono pueden ser aprovechables para fermentaciones de hongos fúngicos (Romero-Sáez, 2022). Por lo cual, esta es una ventaja que permite trabajar con sustratos baratos y fáciles de conseguir y con un alto contenido lignocelulósico.

La fermentación en estado sólido (SSF) es técnicamente viable debido a su simplicidad operativa y menor requerimiento de agua solo se necesita sustratos lignocelulósicos altos en contenido de carbono y En la fermentación con SSF con bagazo de fique y *Pleurotus ostreatus*, se obtuvieron actividades celulolíticas significativas.

Condiciones Optimizadas

El pH óptimo para la actividad de celulasas oscila entre 5.5 y 7.0, dependiendo del

organismo y sustrato, lo que resalta que estos organismos trabajan en ambientes ligeramente ácidos.

La humedad en SSF se mantiene entre 60-70% para favorecer el crecimiento fúngico sin lavado de nutrientes.

Biorreactores Utilizados

Se encuentran diferentes tipos de reactores utilizados para la producción de celulasa bajo SmF y SSF, los reactores utilizados para el proceso de SmF, son reactor de tanque agitado, reactor de burbuja, reactor de transporte aéreo, para SSF se utilizan biorreactor de bandeja simple, lecho empaquetado, tambor giratorio/tambor agitado, lecho fluidizado, tambor oscilante (Singh et al, 2021).

Teniendo en cuenta lo anterior la SSF tiene biorreactores simples de manejar como de bandeja es fácil de operar, producción enzimas más concentradas, limita los pasos de clarificación y estabilización, estos equipos permiten manejar cualquier material en su estructura, como: madera, bambú, plástico y metal.

Viabilidad Económica

Reducción de Costos de Sustratos

Los residuos agroindustriales son gratuitos o de bajo costo, lo que disminuye hasta un 40% los gastos operativos comparado con el uso de celulosa pura (Mueses, 2018). Como se observa en la tabla 4, el bagazo de caña de azúcar es un subproducto de la industria azucarera, evita el costo de adquisición de sustratos comerciales (Lizarraga et al, 2020).

Menor Inversión en Infraestructura

Para la SSF se requiere equipos más simples como: bandejas, biorreactores de lecho empaquetado, consume menos energía que la fermentación sumergida (SmF), aunque esta segunda

al tener un mejor control de las variables es más preciso, los costos de agitación y esterilización son mayores.

Rentabilidad por Aplicaciones Industriales

Las celulasas tienen una demanda en sectores como el bioetanol, alimentos y textiles principalmente, en el caso de la hidrólisis de bagazo de fique con celulasas producidas in situ reduce el costo de pretratamientos en la obtención de biocombustibles, permite que la actividad enzimática reportada escale a la producción para uso comercial.

Desarrollo en la Industria

Las celulasas son enzimas clave en diversas aplicaciones industriales, gracias a su capacidad para descomponer la celulosa en azúcares fermentables. Inicialmente se comenzó a utilizar en la industria de biocombustibles para convertir la biomasa lignocelulósica en azúcares fermentables, que luego pueden ser transformados en bioetanol.

Actualmente la celulasa es la enzima más utilizada comercialmente, lo que aumenta su demanda total, convirtiéndola en la tercera enzima más utilizada industrialmente y representando el 20% del mercado mundial de enzimas (Ranjan et al, 2023).

En la figura 3, se muestra industrias de celulasa líderes mundiales en diferentes países.

Figura 3

Industrias líderes a nivel global



Nota. Industrias productoras de celulasas. Fuente. Ranjan et al, 2023.

Las anteriores figuras muestran los países que producen marcas patentadas de celulasa comerciales como lo son: Novozymes (Dinamarca), Genencor Intl (S. San Francisco, CA), 50 L Lyven (Colombelles, Francia), Alterna Fuel ® CMAX, Onozuka, Carezyme, FiberCare® (endoglucanasa), Celluclast y Accellerase™ 1000 (endoglucanasa) y sus aplicaciones están enfocadas hacia la biorrefinería, industria de procesamiento de alimentos, industrias textiles y de detergentes, industrias de papel y pulpa e industrias del vino y la cerveza (Ranjan et al, 2023).

Esta enzima ha impactado a la industria por su viabilidad y facilidad de producción ya que su desarrollo se puede realizar tanto en SSF como en SmF, además que su fácil modificación genética la hace apetecible para la industria para aumentar la eficiencia, especificidad y estabilidad de las enzimas celulasas para su uso en una variedad de aplicaciones industriales.

Debido a la alta demanda de aplicaciones de la enzima celulasa en la industria, este ha sido un motivo de investigación sobre esta enzima, llegando al año 2023 con 10818 publicaciones de artículos científicos y 11814 patentes, como lo indica Ranjan et al, (2023).

Aplicaciones en la Industria

Industria Alimentaria

En la producción de alimentos, las celulasas se utilizan para mejorar la digestibilidad de ingredientes vegetales, como la fibra en productos de panadería y en la elaboración de jugos, en esta última línea de producción los jugos de frutas han sido beneficiadas por esta enzima ya que ayuda a clarificar el producto aumentando su calidad y rendimiento, así mismo se utiliza en la elaboración de quesos para mejorar la textura y el sabor.

Las glucanasas microbianas desempeñan un papel importante en los procesos de fermentación para producir bebidas alcohólicas, incluidas cervezas y vinos. Estas enzimas ayudan a mejorar la calidad como el rendimiento de los productos fermentados, ya que reducen

la viscosidad del mosto, mejorar la filtrabilidad, la calidad y estabilidad del vino (Kuhad et al, 2011).

Sin embargo, esta enzima es muy versátil y se puede ubicar en varias áreas de la industria para su uso y aplicación, como lo muestra la tabla 8.

Tabla 8

Aplicaciones de las celulasas en diversas industrias

Industria	Aplicaciones
Alimentos - Biotecnología	Mejora del malteado y la maceración; mejora del prensado y la extracción del color de las uvas; mejora del aroma de los vinos; mejora de la fermentación primaria y de la calidad de la cerveza; mejora de la viscosidad y filtrabilidad del mosto; mejora de la clarificación del mosto en la producción de vino; Mejora de la tasa de filtración y la estabilidad del vino.
Mejora calidad de alimentos	Liberación de los antioxidantes de orujo de frutas y verduras; mejora de los rendimientos en la extracción de almidón y proteínas; mejora de la maceración, el prensado y la extracción de color de frutas y

verduras; clarificación de jugos
de frutas; mejora de la textura y la calidad
de los productos de panadería; purés de
frutas de viscosidad mejorada; mejora de
la textura, el sabor, el aroma y las
propiedades volátiles de las frutas y
verduras; Amargor controlado de los
cítricos.

Extracción metabolitos

Mejora de la extracción de carotenoides;
mejora de la oxidación y la estabilidad
del color de los carotenoides; mejora de
la extracción de aceite de oliva; mejora de
la malaxación de la pasta de aceitunas;
mejora de la calidad del aceite de oliva;
reducción del riesgo de residuos de
biomasa; producción de moléculas
híbridas; producción de celulosomas de
diseño.

Nota. Aplicaciones de celulasas en la industria. Fuente. Tomado de Kuhad et al, 2011.

La celulasa es una enzima muy versátil, como se evidencia en la tabla 7, por su amplia actividad en las diferentes áreas de la industria, sin embargo cabe resaltar su importancia en la investigación en el área de biotecnología debido a su capacidad de romper enlaces β -1,4-glucosídicos en la celulosa tiene implicaciones para una amplia gama de procesos

biotecnológicos, así como en la ingeniería genética de microorganismos para producir celulasas más poderosas y la combinación de celulasas con otras enzimas para aumentar la eficiencia de la hidrólisis de celulosa.

Estudios Económicos en la Producción de Celulasas

Astolfi (2019), indica que estudios económicos realizados por industrias que producen celulasas, como U.S. Department of Energy (DOE) y empresas como Novozymes y Genencor, que son enfocados mayormente hacia la industria de biocombustibles han analizado la viabilidad de la producción de celulasas para la conversión de biomasas en azúcares fermentables y se centran en tres puntos importantes:

Costo de la celulasa en procesos de hidrólisis enzimática, que, aunque el costo de la enzima puede ser significativo, la eficiencia de la conversión puede justificar la inversión si se optimizan las condiciones de producción y se utilizan sustratos locales baratos (Astolfi, 2019)

Escalabilidad: En estudios industriales sobre la producción de bioetanol a partir de residuos lignocelulósicos, se ha identificado que la producción de celulasas a gran escala es rentable si se optimiza el proceso de fermentación y se utilizan residuos agrícolas y forestales como sustrato, reduciendo los costos en comparación con sustratos más costosos, como la glucosa o la celulosa purificada (Astolfi, 2019).

Análisis de rentabilidad a largo plazo: La evaluación de la rentabilidad de la producción de celulasas en la industria de biocombustibles ha mostrado que, a pesar de los costos iniciales relativamente altos en investigación y desarrollo, los beneficios a largo plazo superan los costos debido a la creciente demanda de biocombustible sostenibles (Astolfi, 2019).

Impacto Ambiental y Sostenibilidad: considerando la conversión de residuos agrícolas en bioenergía, la utilización de residuos de biomasa no solo reduce el costo de los sustratos, sino

que también contribuye a la reducción de residuos agrícolas y la disminución de la huella de carbono (Astolfi,2019).

Rojas- Rodríguez (2019) indica que los residuos agroindustriales presentan altos porcentajes de celulosa y extractivos, como las semillas de naranja, mandarina, vástago de árbol, cáscaras frutales y otros, que se pueden aprovechar para la producción de alcohol y la obtención de biomateriales. Los residuos con mayor contenido de hemicelulosa como las cáscaras y vástagos tienen aplicaciones en la industria química, alimenticia y farmacéutica.

Además, el mercado de las celulasas a nivel mundial comparte el 20% como las enzimas industrialmente más importantes y en la actualidad, la demanda comercial de celulasas se satisface mediante su producción a través de la fermentación sumergida (SmF) lo cual es costosa, debido a las condiciones asépticas y el exceso de agua a diferencia que en la fermentación sólida (SSF), teniendo en cuenta que el costo de producción mediante la SSF es de 0.2\$/kg , casi diez veces menor que el costo implicado en la SmF (20\$/kg) (Srivastava et al., 2021).

El aprovechamiento de la celulosa presente en los residuos agroindustriales representa una alternativa sostenible que contribuye a la reducción del impacto ambiental. Utilizar estos residuos como sustratos para la producción de celulasas no solo disminuye los costos de producción, sino que también fomenta la valorización de la biomasa residual, la cual, a pesar de generarse en grandes cantidades es subutilizada. A nivel global, se generan aproximadamente 2.010 millones de toneladas de residuos sólidos anualmente, de los cuales el 19% de los residuos orgánicos se recupera mediante procesos sostenibles como el reciclaje y compostaje (Heredia-Martin, 2023). En Colombia, el 18% de los residuos vegetales producidos en las centrales de abastos termina en rellenos sanitarios, desaprovechando su potencial para la economía circular (Lizarraga et al, 2020). Debido a lo anterior, la utilización de residuos agroindustriales de

cultivos como arroz, maíz, soya, trigo, café, caña de azúcar, remolacha, naranja, uva, como materia prima para la producción de enzimas celulolíticas se presenta como una estrategia ambientalmente responsable, que promueve la sostenibilidad y el aprovechamiento eficiente de los recursos (Heredia- Martín, 2020), este punto se enfoca a cumplir con el ODS 13 (Acción por el clima) disminuyendo la generación de gases y ayudando a minimizar el calentamiento global.

Conclusiones

El sustrato ideal para la producción de celulasas es aquel con una buena proporción de celulosa y hemicelulosa, pero con bajo porcentaje de lignina, siendo los residuos que cumplen con estas características como los residuos de caña de azúcar, seguidos de la paja de maíz y las cáscaras de plátano que en general son los más eficaces para la producción de celulasas por su alto contenido en celulosa y bajo porcentaje en lignina que hace más eficiente la producción de celulasas por parte de los organismos fúngicos.

Los microorganismos fúngicos como el *Trichoderma spp* y *Aspergillus spp*, presentan características y capacidades diferentes, que cuando se combinan, pueden mejorar significativamente la eficiencia de la producción de celulasas y la hidrolización de la celulosa, que los hace muy útil para maximizar la producción de celulasas.

Las celulasas son enzimas versátiles que tienen un impacto significativo en diversas industrias, desde la producción de biocombustibles hasta la mejora de la calidad de los alimentos y textiles. Su capacidad para descomponer la celulosa no solo mejora la eficiencia de los procesos, sino que también contribuye a prácticas más sostenibles en la Industria.

Los tipos de fermentación SSF y SmF, son adecuados para el desarrollo de *Trichoderma* y *Aspergillus niger* en la producción de celulasas, sin embargo, la elección depende de los objetivos específicos de la producción, el tipo de sustrato utilizado y las variables a controlar, en general la SSF es la más preferida cuando se busca una opción más económica y ecológica, pero a nivel industrial la SmF ofrece un mayor control sobre el proceso de producción de enzimas y la escalabilidad.

El costo de producción de celulasas a nivel industrial es costoso debido al uso de una celulosa comercial llamada “Avicel” que es utilizada como sustrato, sin embargo se reporta que

el aprovechamiento de sustratos de origen vegetal como residuos agrícolas ofrece una alternativa de bajo costo y es alto en contenido de celulosa y materia orgánica, los hace ser uno de los sustratos potenciales para producir celulasas de bajo costo y ayuda a gestionar la problemática ambiental que se presenta actualmente.

En la producción de celulasas se indica que, aunque los costos iniciales de producción pueden ser altos, especialmente en términos de pretratamiento de biomasa y la recuperación de enzimas, la rentabilidad a largo plazo es prometedora, particularmente cuando se utilizan residuos de biomasa como sustratos de bajo costo.

Recomendaciones

El uso de fermentación en sólido SSF con residuos agrícolas ha mostrado una reducción de costos en comparación con la fermentación sumergida (SmF), ya que no requiere grandes cantidades de agua ni costosos medios líquidos.

Utilizar sustratos de bajo costo como residuos agrícolas son una opción, sin embargo, se debe utilizar aditivos y fuentes de nitrógeno, fósforo y otros nutrientes esenciales para el crecimiento de los microorganismos.

Para reducir los costos en la extracción y purificación de las celulasas, se deben utilizar técnicas de separación eficiente y reciclaje de los sustratos.

Yoon L (2014), indica que, para mejorar la producción de celulasas, se debe modificar genéticamente la cepa fúngica para que sea más robusta en la producción de celulasas y de mejor calidad.

Referencias Bibliográficas

- Abdul Karim, N. Z., Zainol, N., & Abu Talip, M. S. (2022). Efecto de los parámetros de procesamiento sobre el contenido de celulosa extraída de la hoja de piña. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 42, Artículo 102339. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2022.102339>
- Areeshi, M. Y. (2022). Microbial cellulase production from fruit waste and its applications in biofuel production. *International Journal of Food Microbiology*, 378, Artículo 109575. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109814>
- Astolfi, V., Mazutti, M., Rigo, E., Di Luccio, M., Frumi, A., Dalastra, C., Kubeneck, S., Fongaro, G., & Treichel, H. (2019). Cellulolytic enzyme production from agricultural residues for biofuel purpose on circular economy approach. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 4, 677–685. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00449-019-02072-2>
- Banerjee, S. (2018). Valorización de residuos de piña para aplicaciones alimentarias y terapéuticas. *Trends in Food Science & Technology*, 82, 60–70. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.09.024>
- Borthakur, I., Devi, R. P., Karthikeyan, S., Ramesh, D., & Muruganathi, D. (2024). Producción de celulasa microbiana: tecnologías actuales y perspectivas futuras. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 18(4), 2188–2204. <https://doi.org/10.22207/JPAM.18.4.08>
- Chávez-García, M., Montaña-Lara, J. S., Martínez-Salgado, M. M., Mercado-Reyes, M., Rodríguez, M. X., & Quevedo-Hidalgo, B. (2008). Efecto del sustrato y la exposición a la luz en la producción de una cepa de *Trichoderma* sp. *Universitas Scientiarum*, 13(3), 245-251. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-74832008000300003

- Escudero, J., Daza, Z., Gil, N., & Mora, O. (2013). Evaluación de las enzimas celulolíticas producidas por hongos nativos mediante fermentación en estado sólido (SSF) utilizando residuos de cosecha de caña de azúcar. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 15(1), 74-82. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4776404>
- Ghosh, S., Godoy, L., Anchang, K. Y., Achilonu, C. C., & Gryzenhout, M. (2021). Celulasas fúngicas: investigación actual y retos futuros. En A. M. Abdel-Azeem, A. N. Yadav, N. Yadav & M. Sharma (Eds.), *Hongos industrialmente importantes para el desarrollo sostenible* (pp. 147-178). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-030-85603-8_7
- Gutiérrez-Rojas, I. (2015). Mecanismos y regulación de la hidrólisis enzimática de celulosa en hongos filamentosos: casos clásicos y nuevos modelos. *Revista Iberoamericana de Micología*, 32, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.riam.2013.10.009>
- Hernández-Melchor, D. J., Ferrera-Cerrato, R., & Alarcón, A. (2019). *Trichoderma*: importancia agrícola, biotecnológica, y sistemas de fermentación para producir biomasa y enzimas de interés industrial. *Chilean Journal of Agricultural & Animal Sciences*, 35(1), 98-112. https://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0719-38902019000100098&script=sci_arttext
- Heredia-Martín, J., & Sánchez-Castelblanco, E. M. (2023). Evaluación de microorganismos y sustratos obtenidos a partir de residuos orgánicos para la producción de celulasas. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 21(2), 50–61. <https://doi.org/10.18684/rbsaa.v21.n2.2023.2165>
- Hua, Y., Priya, A., & Chen, C. (2023). Avances recientes en las interacciones sustrato-enzima que facilitan la biodegradación eficiente de la biomasa lignocelulósica: una revisión. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 180, Artículo 105594. <https://doi-org.bibliotecavirtual.unad.edu.co/10.1016/j.ibiod.2023.105594>

- Kuhad, R. C., Gupta, R., & Singh, A. (2011). Microbial cellulases and their industrial applications. *Enzyme Research*, 2011, Artículo 280696.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3168787/>
- León-Revelo, G., Cujilema-Quitio, M., Baryolo, L., Delgado, E., Córdova, J., & Beltrán, L. (2018). Determinación óptima para la producción de celulasas con *Aspergillus niger* en fermentación sólida. *Centro Agrícola*, 45(3), 5–12.
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2223-48612018000300001
- Limayem, A., & Ricke, S. C. (2012). Lignocellulosic biomass for bioethanol production: Current perspectives, potential issues and future prospects. *Progress in Energy and Combustion Science*, 38(4), 449–467. <https://doi.org/10.1016/j.pecs.2012.03.002>
- Lizarraga, E., Haro, D., & Cordova, L. (2020). Fermentación de residuos de café con *Aspergillus niger* para la producción de celulasa. *Revista de Innovación y Transferencia Productiva*, 1(1), 1–19.
https://www.researchgate.net/publication/355215866_Fermentacion_de_residuos_de_cafe_con_Aspergillus_Niger_para_la_produccion_de_celulasa
- Liu, C.-G., & Zhao, X.-Q. (2023). Fungal strain improvement for efficient cellulase production and lignocellulosic biorefinery: Current estatus and future prospects. *Bioresource Technology*, 385, Artículo 129449. <https://doi-org.bibliotecavirtual.unad.edu.co/10.1016/j.biortech.2023.129449>
- Li, W. Y., Zhao, L., & He, X. (2022). Potencial de degradación de diferentes residuos lignocelulósicos por *Trichoderma longibrachiatum* y *Trichoderma afroharzianum* bajo fermentación en estado sólido. *Process Biochemistry*, 112, 2-17.
<https://doi.org/10.1016/j.procbio.2021.11.011>

- Lozano, G., & Rodríguez, Y. (2020). *Desarrollo de un proceso de fermentación en estado sólido (SSF) para la obtención de proteínas durante la valorización de residuos orgánicos en biorreactores a escala laboratorio* [Tesis de pregrado, Universidad Cooperativa de Colombia]. Repositorio Institucional.
<https://repository.ucc.edu.co/server/api/core/bitstreams/9c6777ff-b2e6-48e8-92b1-60915e1bb2a0/content>
- Manjarrés, K., Piñeros, Y., & Rodríguez-Sandoval, E. (2011). Evaluación del complejo enzimático producido mediante el cocultivo de *Aspergillus* sp. y *Trichoderma* sp. en fase sólida sobre residuos de palma. *Bioagro*, 23(1), 19-26.
http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1316-33612011000100003
- Miranda Sosa, A. (2019). *Producción de celulasas de Aspergillus niger ITV-02* [Tesis de pregrado, Tecnológico Nacional de México]. Repositorio Institucional.
<https://rinacional.tecnm.mx/jspui/handle/TecNM/2605>
- Mueses, R., & Romo, L. (2018). *Utilización de celulasas obtenidas por fermentación en estado sólido de Pleurotus ostreatus, en la sacarificación de papel* [Tesis de pregrado, Universidad de Nariño]. Repositorio Institucional. <http://sired.udenar.edu.co/id/eprint/92592>
- Nisha, B., Bikash, K., Komal, A., & Pradee, V. (2021). Current perspective on production and applications of microbial cellulases: A review. *Bioresources and Bioprocessing*, 8, Artículo 95.
<https://link.springer.com/article/10.1186/s40643-021-00447-6>
- Ojha, C. P., Debnath, A., Neetu, K., Bardhan, S., Mitra, P., Sharma, M., Sridhar, K., & Kumar, P. (2023). Avances recientes en la valorización de residuos y subproductos del procesamiento de la piña (*Ananas comosus*): un paso hacia la bioeconomía circular. *Trends in Food Science & Technology*, 136, Artículo 104271.
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2023.04.008>

Organización de las Naciones Unidas. (2015). *Objetivos de Desarrollo Sostenible*.

<https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/>

Peciulyte, A., Anasontz, G. E., Karlstrom, K., Larsson, T., & Olsson, L. (2014). La morfología y la producción de enzimas de *Trichoderma reesei* Rut-C 30 se ven afectadas por las características físicas y estructurales de los sustratos celulósicos. *Fungal Genetics and Biology*, 72, 64–72. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2014.07.011>

Ranjan, R., Rai, R., Bhatt, S. B., & Dhar, P. (2023). Celulasa tecnológica: una perspectiva integral de las aplicaciones estructurales, computacionales e industriales. *Journal of Biochemical Engineering*, 192, Artículo 109020. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2023.109020>

Reddy, G. P. K., Narasimha, G., Kumar, K. D., Ramanjaneyulu, G., Ramya, A., Shanti Kumari, B. S., & Rajasekhar Reddy, B. (2015). Cellulase production by *Aspergillus niger* on different natural lignocellulosic substrates. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 4(4), 835–845. <http://www.ijcmas.com/vol-4-4/G-Praveen-Kumar-Reddy-et-al.pdf>

Rodríguez, A. (2019). *Actividad celulolítica de hongos filamentosos aislados del Parque Nacional de Foz de Iguacu- Brasil en sustratos agrícolas mediante la planificación experimental* [Tesis de pregrado, Universidad Federal de Integración Latino Americana]. Repositorio Institucional. <https://dspace.unila.edu.br/server/api/core/bitstreams/e9ae7c1c-e616-4020-a9e6-f7238edd6a14/content>

Rodríguez, I. (2007). Producción de complejos enzimáticos celulolíticas mediante el cultivo en fase sólida de *Trichoderma* sp., sobre los racimos vacíos de palma de aceite como sustrato. *Vitae*, 14(2), 35–42. <http://ref.scielo.org/2rs7p3>

- Rojas-González, A. F., Flórez-Montes, C., & López-Rodríguez, D. F. (2019). Prospectivas de aprovechamiento de algunos residuos agroindustriales. *Revista Cubana de Química*, 31(1), 31–52. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-54212019000100031
- Romero-Sáez, M. (2022). Los residuos agroindustriales, una oportunidad para la economía circular. *Tecnológicas*, 25(54), Artículo e100. <https://doi.org/10.22430/22565337.2505>
- Saha, B. C. (2004). Production, purification and properties of endoglucanase from a newly isolated strain of *Thermomonospora* sp. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 31(3), 151–156
- Salleh, W. N. B. W., Azman, W. A. W. W., & Said, M. S. M. (2011). Characterization of Empty Fruit Bunch (EFB) Fibers as a Potential Raw Material for Cellulosic Products. *Journal of Tropical Forest Science*, 23(3), 329-338. <http://dx.doi.org/10.22146/mot.52715>
- Sánchez, C. (2009). Lignocellulosic residues: Biodegradation and bioconversion by fungi. *Biotechnology Advances*, 27, 185–194. <https://doi-org.bibliotecavirtual.unad.edu.co/10.1016/j.biotechadv.2008.11.001>
- Sánchez-Castelblanco, E. M., & Heredia-Martín, J. P. (2024). Obtención de celulasas bacterianas usando residuos orgánicos generados en plazas de mercado. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 27(1), Artículo e2264. <https://doi.org/10.31910/rudca.v27.n1.2024.2264>
- Santos, F. A., de Carvalho-Gonçalves, L. C. T., Cardoso-Simões, A. L. de C., & de Melo Santos, S. F. (2021). Evaluation of the production of cellulases by *Penicillium* sp. FSDE15 using corncob and wheat bran as substrates. *Bioresource Technology Reports*, 14, Artículo 100648. <https://doi-org.bibliotecavirtual.unad.edu.co/10.1016/j.biteb.2021.100648>

- Sorour, A. A., Olama, Z. A., El-Naggar, M. Y., & Ali, S. M. (2023). Desarrollo de bioprocesos para la extracción y purificación de celulasas de *Aspergillus niger* 3ASZ mediante técnicas de diseño experimental estadístico. *International Journal of Biological Macromolecules*, 242, Artículo 124759. <https://doi-org.bibliotecavirtual.unad.edu.co/10.1016/j.ijbiomac.2023.124759>
- Suárez-Contreras, L. Y., & Peñaranda-Figueroa, F. A. (2022). Identificación molecular de hongos filamentosos y su potencial biotecnológico. *Biotechnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 20(1), 194-206.
<https://revistas.unicauca.edu.co/index.php/biotechnologia/article/view/1914>
- Serrano, S., Cortés, O., & Charris, I. (2018). El papel de los hongos degradadores de celulosa presente en el bagazo de caña de azúcar como alternativa industrial en la producción de bioetanol de segunda generación. *Microciencia*, 7, 45–55.
- Singh, A., Devi, S., & Deepak, P. (2021). Una visión general de los desarrollos recientes en la producción de celulasas fúngicas y sus aplicaciones industriales. *Bioresource Technology Reports*, 14, Artículo 100652.
<https://doi.org/10.1016/j.biteb.2021.100652>
- Smolinska, U., Kowalska, B., Kowalczyk, W., & Szczech, M. (2014). The use of agroindustrial wastes as carriers of *Trichoderma* fungi in the parsley cultivation. *Scientia Horticulturae*, 179, 1–8.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304423814004750>

- Srivastava, N., Srivastava, M., Alhazami, A., Kausar, T., Haque, S., Singh, R., Ramteke, P., Kumar, P., Tuohy, M., Leitgeb, & Kumar, V. (2021). Avances tecnológicos para mejorar la producción de celulasas fúngicas a partir de desechos de frutas para aplicaciones bioenergéticas: una revisión. *Environmental Pollution*, 287, Artículo 117370. <https://doi-org.bibliotecavirtual.unad.edu.co/10.1016/j.envpol.2021.117370>
- Sun, Y., & Cheng, J. (2002). Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: A review. *Bioresource Technology*, 83(1), 1–11
- Torres, A., & Flórez, C. (2020). *Evaluación de sustratos orgánicos destinados a la propagación de Trichoderma harzianum como biocontrolador para fincas agroecológicas de la Asomcay, Al norte de la provincia de Pichincha – Ecuador* [Tesis de pregrado, Universidad Politécnica Salesiana]. Repositorio Institucional. <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/19492>
- Unión Internacional de Química Pura y Aplicada. (2019). "Fermentación". En *Compendio de Terminología Química de la IUPAC* (3.^a ed., versión en línea 3.0.1). <https://doi.org/10.1351/goldbook.F02337>
- Vaishnav, N., Singh, A., Adsul, M., Dixit, P., Sandhu, S. K., Mathur, A., Puri, S. K., & Singhanian, R. R. (2018). *Penicillium*: The next emerging champion for cellulase production. *Bioresource Technology Reports*, 2, 131–140. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2589014X18300239#:~:text=Penicillium%20have%20proven%20to%20be,with%20Trichoderma%20for%20biofuel%20applications>

- Vásquez, E., Castro, L., Maldonado, I., Luna-Suárez, S., & Martínez, C. (2020). Paja de moringa como inductor de la producción de celulasas y fuente de hongos celulolíticos residuo de moringa como inductor en la producción de celulasas y como fuente de hongos celulolíticos. *Revista Argentina de Microbiología*, 52, 4–12. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2019.02.005>
- Jie Yang, Hou-Ru Yue, Li-Ya Pan, Jia-Xun Feng, Shuai Zhao, Surisa Suwannarangsee, Verawat Champreda, Chen-Guang Liu, Xin-Qing Zhao, (2023). Fungal strain improvement for efficient cellulase production and lignocellulosic biorefinery: Current estatus and futureprospects, *Bioresource Technology*, Volumen 385, 129449, ISSN 0960-8524, <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.129449>
- Yoon, L. W., Ang, T. N., Ngoh, G. C., & Chua, A. S. M. (2014). Fungal solid-state fermentation and various methods of enhancement in cellulase production. *Biomass and Bioenergy*, 67, 319–338. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2014.05.013>