TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES

CARRERA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL

"EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD XILANOLÍTICA Y CELULOLÍTICA EN RESIDUOS AGRÍCOLAS MEDIANTE EL USO DE HONGOS NATIVOS AISLADOS DE SUELOS AGRÍCOLAS DE CASMA (ANCASH – PERÚ)"

Tesis para optar el título profesional de:

INGENIERA AMBIENTAL

Presentado por:

Jasmin Yairsa Vargas Solis (0000-0002-7147-5009)

Asesor:

Marcos Alejandro Sulca Lopez (0000-0001-9056-0068)

Co-asesor:

Óscar Reátegui Arévalo (0000-0001-9773-2176)

Lima – Perú

2023

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Lima, 28 de junio del 2023.

Los integrantes del Jurado de tesis:

Presidente: Mg. Catherine Mariela Coronado León
Miembro: Mg. Wendy Elizabeth Pérez Porras
Miembro: Mg. Marisol Nuñez Martinez

Se reúnen para evaluar la tesis titulada:

"EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD XILANOLÍTICA Y CELULOLÍTICA EN RESIDUOS AGRÍCOLAS MEDIANTE EL USO DE HONGOS NATIVOS AISLADOS DE SUELOS AGRÍCOLAS DE CASMA (ANCASH – PERÚ)"

Presentada por la/el estudiante/bachiller:

- **Jasmin Yairsa Vargas Solis**

Para optar el Título Profesional de Ingeniero Ambiental

Asesorado por: Dr. Marcos Sulca López y Co-asesorado por: Mg. Óscar Reátegui Arévalo

Luego de haber evaluado el informe final de tesis y evaluado el desempeño de la tesista de la carrera de Ingeniería Ambiental en la sustentación, concluyen de manera unánime (X) por mayoría simple ( ) calificar a:

Tesista: Jasmin Yairsa Vargas Solis			Nota (en letras): 14 (CATORCE)
Aprobado (X)	Aprobado - Muy buena ( )	Aprobado - Sobresaliente ( )	Desaprobado ( )

Los miembros del jurado firman en señal de conformidad.

Mg. Catherine Mariela Coronado León
Presidente

Mg. Wendy Elizabeth Pérez Porras
Miembro 1

MARISOL NUÑEZ MARTINEZ
DNI N°42806606

Mg. Marisol Nuñez Martinez
Miembro 2

Dr. Marcos Sulca López
Asesor

T // (511) 610 6738
informes@cientifica.edu.pe
cientifica.edu.pe

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

ANEXO: FORMATO DE DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD DE CONTENIDO DE INFORME FINAL DE TESIS O TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD DE CONTENIDO DE INFORME FINAL DE TESIS / TRABAJO DE INVESTIGACIÓN[1]

Lima, 02 de agosto del 2023

Señor,
Carlos Zavalaga Reyes

Director General de Investigación, Desarrollo e Innovación
Universidad Científica del Sur
Presente. –

De nuestra consideración,

Yo: Jasmin Yairsa Vargas Solis, egresado de la carrera de Ingeniería Ambiental de la Universidad Científica del Sur, en conjunto con mi asesor de tesis el Dr. Marcos Alejandro Sulca López, declaramos que este informe final de tesis titulado: "EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD XILANOLÍTICA Y CELULOLÍTICA EN RESIDUOS AGRÍCOLAS MEDIANTE EL USO DE HONGOS NATIVOS AISLADOS DE SUELOS AGRÍCOLAS DE CASMA (ANCASH – PERÚ)", sustentado para obtener el título de Ingeniera Ambiental es original.

Es decir, no contiene plagio parcial ni total, cuando se utilizó información de fuentes externas se reconoció la autoría mediante la adecuada citación y los resultados obtenidos son producto entero de nuestra investigación y no han sido falseados ni fabricados. Todo esto en cumplimiento del Código de ética en la investigación, Reglamento del Comité de Integridad Científica, Reglamento de Propiedad Intelectual, Normas y procedimientos de los trabajos de investigación para la obtención de títulos profesionales y grados académicos [2], que afirmamos conocer en su totalidad.

Por ello, en caso de identificarse alguna situación de plagio, falsificación o fabricación de resultados, nos allanamos al proceso de investigación que establezca la Universidad y las posibles sanciones que pudieran surgir.

Firmamos en conformidad con lo declarado,

Firma tesista
DNI: 76067090

Firma del asesor de tesis
DNI: 41283664

[1] En conformidad con la Resolución del Consejo Directivo N° 084-2022-SUNEDU/CD
[2] Los documentos están en: https://investigacion.cientifica.edu.pe/reglamentos/

INFORME DE REVISIÓN DE ORIGINALIDAD

Título del documento evaluado. Evaluación de la actividad xilanolítica y celulolítica en residuos agrícolas mediante el uso de hongos nativos aislados de suelos agrícolas de Casma (Ancash - Perú)

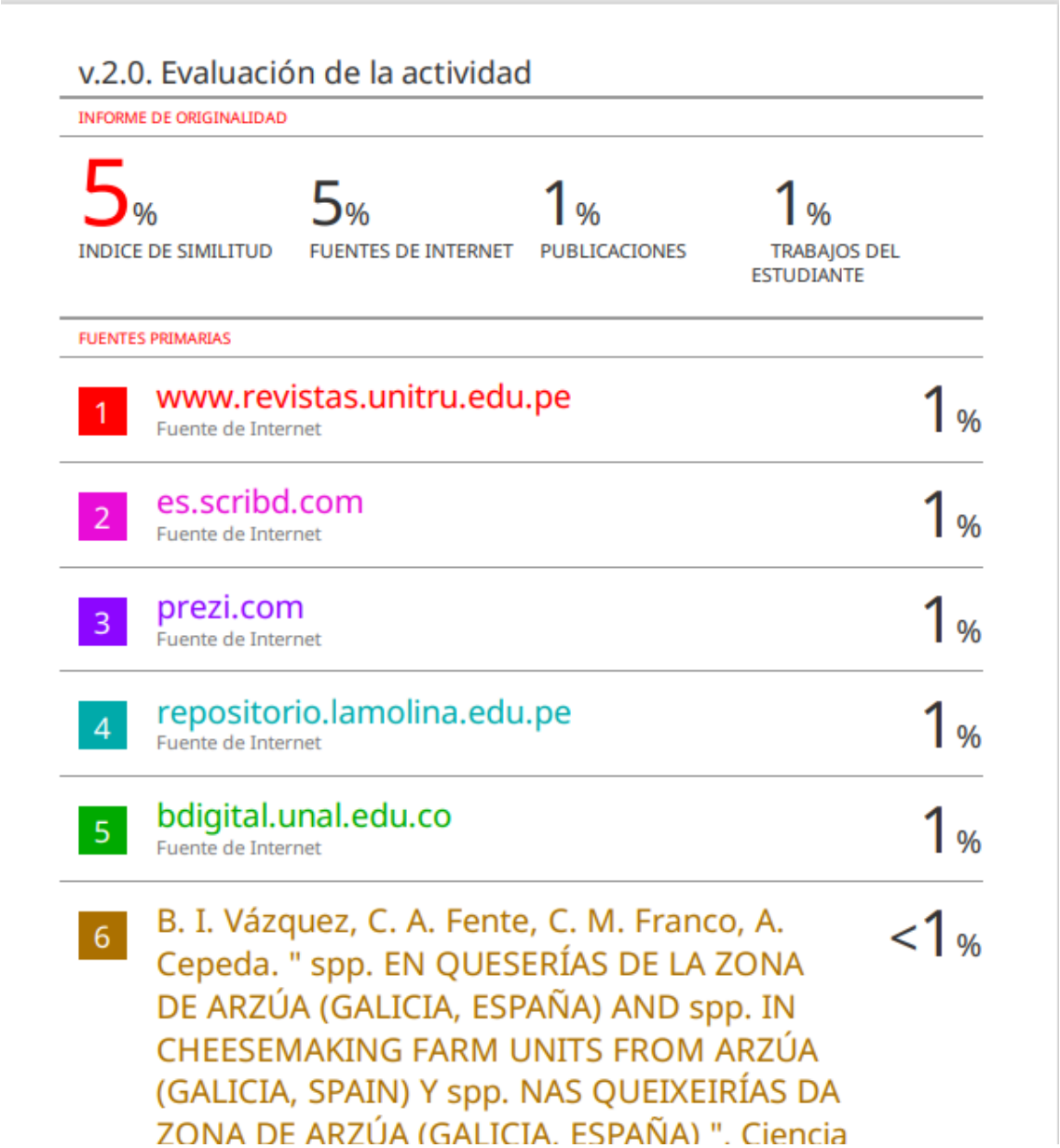
Autores. Jasmin Yairsa Vargas Solis.

Mecanismo de revisión de originalidad. Evaluación con Turnitin (ID 2284758050).

Resultado de la evaluación. 5%

Revisado por. Magaly Kelly Guerrero Huaracallo.

Comentarios sobre la revisión. Filtros usados: excluir fuentes de menos de 12 palabras.



v.2.0. Evaluación de la actividad

INFORME DE ORIGINALIDAD

5%	5%	1%	1%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	www.revistas.unitru.edu.pe Fuente de Internet	1%
2	es.scribd.com Fuente de Internet	1%
3	prezi.com Fuente de Internet	1%
4	repositorio.lamolina.edu.pe Fuente de Internet	1%
5	bdigital.unal.edu.co Fuente de Internet	1%
6	B. I. Vázquez, C. A. Fente, C. M. Franco, A. Cepeda. " spp. EN QUESERÍAS DE LA ZONA DE ARZÚA (GALICIA, ESPAÑA) AND spp. IN CHEESEMAKING FARM UNITS FROM ARZÚA (GALICIA, SPAIN) Y spp. NAS QUEIXEIRÍAS DA ZONA DE ARZÚA (GALICIA, ESPAÑA) ". Ciencia	<1%

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

Evaluation of xylanolytic and cellulolytic activity in agricultural waste through the use of native fungi isolated from agricultural soils in Casma (Ancash – Perú)

Jasmin Vargas Solis[1]; Marcos Sulca López[2]; Óscar Reátegui Arévalo[3]

[1] Facultad de Ciencias Ambientales, Universidad Científica del Sur, Lima, Perú.
[2] Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.
[3] Grupo de investigación, Caracterización, Transformación y Sustentabilidad de los Recursos Naturales del Perú (CTS Group), Universidad Científica del Sur, Lima, Perú.
[*]Corresponding author: oreategui@cientifica.edu.pe

Abstract

In the world, agricultural waste are part of an abundant and renewable alternative with high biotechnological potential, due they are mostly composed of cellulose, hemicellulose and lignin. The objective of this research was to evaluate the potential degradation of agricultural waste by fungi belonging to the genera *Penicillium* and *Aspergillus* isolated and selected from agricultural soil samples. For this, the percentage of degradation, the enzymatic activity of xylanase and endoglucanase were determined; and the release of reducing sugars by saccharification of agricultural waste (cassava, tomato, asparagus) using crude enzyme extracts. It was found that both fungi have the capacity to degrade agricultural waste evaluated based on the amount of reducing sugars released using birch wood xylan and CMC (commercial substrates) as substrate, both determined as 100% release. *Aspergillus* sp. VS1 showed higher biodegradation capacity of the three residues evaluated, with respect to xylan and carboxymethylcellulose. This same pattern was manifested in terms of enzymatic activity. Regarding the saccharification of agricultural waste, the tomato presented the maximum release of reducing sugars with the enzymatic extract of *Penicillium* sp. PVS2 (T120H-P) incubated at 96 h. In this sense, the organic waste derived from agricultural activities have a high potential for reuse for the production of various enzymes of great use for the production of biofuels, in the face of this new scenario of global warming and climate change.

Keywords: agricultural waste; biodegradation, *Aspergillus* sp.; *Penicillium* sp.; xylanase; endoglucanase.

Resumen

En el mundo, los residuos orgánicos agrícolas forman parte de una abundante y renovable fuente de carbohidratos y están compuestos en su mayor parte por celulosa hemicelulosa, polisacáridos que son degradados por microorganismos. El objetivo de esta investigación consistió en evaluar la capacidad degradativa de residuos orgánicos agrícolas, mediante hongos pertenecientes a los géneros *Penicillium* y *Aspergillus* aislados y seleccionados a partir de muestras de suelo agrícola. Para ello, se determinó la capacidad de degradación, la actividad enzimática de la xilanasa y endoglucanasa; y la liberación de azúcares reductores mediante la sacarificación de los residuos orgánicos agrícolas (yuca, tomate y espárrago) usando extractos enzimáticos crudos. Se encontró que ambos hongos tienen capacidad para degradar los residuos agrícolas evaluados con base a la cantidad de azúcares reductores liberados utilizando como sustrato xilano de madera de abedul y CMC (sustratos comerciales), ambos determinados como 100% de liberación. *Aspergillus* sp. VS1 mostró mayor capacidad de biodegradación de los tres residuos evaluados, con

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

respecto al xilano y la carboximetilcelulosa. Este mismo patrón se manifestó en la actividad enzimática. En cuanto a la sacarificación de residuos agrícolas, el tomate presentó la máxima liberación de azúcares reductores con el extracto enzimático de *Penicillium* sp. PVS2 (T120H-P) incubado a las 96 h. En este sentido, los residuos orgánicos derivados de las actividades agrícolas tienen un alto potencial de reutilización para la producción de diversas enzimas de gran utilidad para la producción de biocombustibles, ante este nuevo escenario de calentamiento global y cambio climático.

Palabras claves: residuos agrícolas, biodegradación, *Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.*, xilanasa, endoglucanasa.

1. Introducción

Los residuos vegetales son la fuente renovable más grande que existe en el mundo. Del 46% de residuos orgánicos que se generan anualmente (Porras y González, 2016) cerca del 85% son provenientes del sector agrícola, forestal y de las actividades agroindustriales (Cruz et al., 2009). Los principales microorganismos capaces de metabolizarla e hidrolizarla son las bacterias aerobias, anaerobias, mesófilas o termófilas y los hongos, debido a su capacidad de síntesis de enzimas lignocelulolíticas tales como las celulasas y xilanasas (Baray et al., 2019).

Las propiedades químicas de los residuos agrícolas y su composición de celulosa, hemicelulosa y lignina permiten que tengan un enorme valor biotecnológico (Andlar et al., 2018) para la producción de energía, enzimas y biocombustibles (Terrone et al., 2018). La hidrólisis de la celulosa se realiza mediante el proceso enzimático de celulasas en el que participan cuatro tipos de enzimas: la endo ß-glucanasa, la exo ß-glucanasa, la celobiohidrolasa y la ß-glucosidasa (Gutiérrez et al., 2015). Mientras que, la hidrólisis del xilano se realiza mediante las enzimas: ß 1,4 endoxilanasa y ß-xilosidasa (Chakdar et al., 2016).

Actualmente, existe gran interés por el aprovechamiento de los residuos orgánicos derivados de las actividades agrícolas, forestales y agroindustriales para ser transformados mediante hidrólisis enzimática o química en azúcares fermentables o

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

metabolitos de interés comercial para la producción de biocombustible de segunda generación (Terrone et al., 2018), el cual se produce a partir de biomasa lignocelulósica a diferencia del combustible de primera y tercera generación, que se producen a partir de biomasa comestible (maíz y caña de azúcar) y de microalgas, respectivamente (González et al., 2017). En este sentido, se han venido impulsado diversos estudios para la producción enzimática de celulasas y xilanasas extracelulares con diferentes microorganismos lignocelulolíticos. Los hongos filamentosos más estudiados son los géneros *Trichoderma*, *Aspergillus* y *Penicillium* (Andlar et al., 2018; Cruz et al., 2019).

El desarrollo de energías limpias y sistemas de producción de energía que contaminen mínimamente el ambiente son imprescindibles para enfrentar los desafíos del cambio climático y de este modo mitigar sus efectos devastadores (Ibarra, 2018). La producción de biocombustibles, en especial las que se producen a partir de residuos agrícolas constituyen la próxima generación de energía renovable, puesto que se genera 85% menos de gases de efecto invernadero, en contraste con la extracción convencional del petróleo (Lamichhane et al., 2021). Sin embargo, por ahora existen algunas limitaciones en cuanto a la producción de enzimas y azúcares fermentables en cantidad (Noel et al., 2014).

El objetivo de esta investigación consistió en evaluar la capacidad degradativa de residuos agrícolas provenientes de tomate, espárrago y yuca, mediante el uso de hongos pertenecientes a los géneros *Penicillium* y *Aspergillus* aislados de muestras de suelo agrícola, como base para la producción de bioetanol de segunda generación.

2. Materiales y métodos

2.1 Recolección y pretratamiento de los residuos agrícolas

Se recolectaron residuos agrícolas de espárrago, tomate y yuca del distrito de Casma (Ancash) en bolsas estériles de polietileno. Además, se usaron dos sustratos comerciales

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

como controles positivos: carboximetilcelulosa (CMC - CDH) y xilano de madera de abedul (Biosynt Carbosynth).

Los residuos, fueron molidos y tamizados para obtener partículas de aproximadamente 1 a 2 mm. Se pesaron muestras de 50 g y se procedió con la eliminación de la lignina, sumergiendo las muestras en una solución de 0,1 M de NaOH por 15 min. Luego, se adicionó 0,816 g de sulfato de calcio ($CaSO_4$) y puesto en reposo por 3 h (Tejeda et al., 2011). Finalmente, se separó el material particulado de la solución por decantación.

2.2 Aislamiento y selección de microorganismos

Los hongos xilanolíticos y celulolíticos fueron aislados de muestras de suelo agrícola extraídos del distrito de Casma (Ancash). Se recolectó 1 g de sustrato de cada muestra y se procedió a realizar diluciones seriadas hasta 10^{-3} (Madigan et al., 2000). Cada dilución fue sembrada por triplicado en el medio selectivo de agar Sabouraud suplementado con cloranfenicol, a más repeticiones el promedio de los resultados es más confiable, pH 5,6, usando 10 µL de la dilución aplicando la técnica de diseminación en placa mediante el uso de la espátula de Drigalsky (Cruz et al., 2009). Se incubó por 3 a 5 días a 30 °C ± 2 (Monserrate et al., 2014), después del tiempo de incubación se seleccionaron los hongos pertenecientes a los géneros *Penicillium* y *Aspergillus* a nivel de morfoespecie, según las características culturales de las colonias. Se resembraron en tubos con medio inclinado de agar Sabouraud y se conservaron a 4 °C hasta su uso en los siguientes experimentos.

2.3 Preparación del inóculo y del medio de cultivo

Para la obtención del inóculo, se cultivaron esporas de cada hongo seleccionado en matraces de 50 mL de caldo de papa y dextrosa (PDB), pH 5,6 por 5 días e incubados a 30 °C ± 2. Posteriormente, se realizó el recuento de las esporas en una cámara Neubauer y se procedió a realizar diluciones sucesivas hasta obtener una concentración final de 10^6 esporas por mililitro (Izarra et al., 2010).

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

Los cultivos se realizaron en frascos de Erlenmeyer de 250 mL conteniendo 40 mL del medio de cultivo, pH 5,6, y estos fueron inoculados con 2 mL del inóculo con las esporas, para posteriormente ser incubados a 30 °C en agitación constante a 175 rpm, en una incubadora en agitación. La composición del medio de cultivo por litro fue: KH_2PO_4, 2 g; $(NH_4)_2SO_4$, 1,4 g; urea, 0,3 g; $CaCl_2.2H_2O$, 0,3 g; $MgSO_4.7H_2O$, 0,3 g; peptona, 1 g; Tween 80, 2 mL; $FeSO_4.7H_2O$, 5 mg; $MnSO_4.2H_2O$, 1,6 mg; $ZnSO_4.7H_2O$, 1,4 mg; $CoCl_2.6H_2O$, 2 mg; conteniendo 10 g de residuo agrícola pretratado o 10 g del sustrato comercial.

2.4 Determinación de la capacidad degradativa de los residuos agrícolas

Se filtró el medio de cultivo suplementado con el residuo agrícola pretratado de yuca (11,8% de lignina, 38,8% de celulosa, 7,2% de hemicelulosa), tomate (13,3% de lignina, 36.4% de celulosa, 9,58% de hemicelulosa), espárrago (12,8% de lignina, 7,5% de celulosa, 18,4% de hemicelulosa), xilano y CMC, inoculado con las esporas mediante el uso del papel filtro Whatman N° 1, para retirar el material grueso del cultivo. Luego, se esterilizó por filtración usando papel filtro Millipore con poros de 2 µm para la obtención de los extractos crudos. Posteriormente, se midió la cantidad de azúcares reductores mediante el método colorimétrico DNS (Ácido 3,5 dinitrosalicílico) en microplacas de 96 pozos (King et al., 2009) con algunas modificaciones. Se mezcló 120 µL del reactivo de DNS con 60 µL del extracto en microplacas de poliestireno transparente, se cerraron herméticamente y se incubaron por 9 min a 91 °C. Luego de la incubación, la microplaca fue colocada al interior de una fuente de agua fría y se recolectó 36 µL de la mezcla para agregarla en cada pocillo de la microplaca que contenía 160 µL de agua destilada. Las absorbancias fueron medidas en el lector de Elisa a 540 nm para cuantificar los azúcares reductores presentes en cada muestra. Los cálculos se realizaron usando como 100% la cantidad de azúcares reductores liberados en xilano y CMC.

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

2.5 Determinación de la actividad enzimática

Para determinar la actividad enzimática, se realizó la hidrólisis del CMC y xilano de madera de abedul para determinar la actividad endoglucanasa y xilanasa, respectivamente. Para ello, se usó el extracto enzimático estéril y los componentes fueron los siguientes: buffer fosfato 50 mm a pH 6,0 como blanco de muestra para ambos hongos seleccionados, CMC 1% (p/v) y xilano de madera de abedul 1% (p/v) a pH 5,6. La hidrólisis de cada muestra se cuantificó con el lector de Elisa a 540 nm. La incubación fue en baño María por 2 h a 30 °C ± 2. La cuantificación se realizó mediante la metodología de DNS anteriormente descrita, la actividad se obtuvo mediante las fórmulas de actividad enzimática determinada por Ghose (1987) y expresados como U/L.

2.6 Sacarificación de los extractos enzimáticos con mayor actividad enzimática

De la etapa anterior (ítem 2.5), se seleccionaron los extractos con mayor actividad enzimática por cada hongo evaluado. Los cuales fueron concentrados mediante una precipitación fraccionada con sulfato de amonio ($(NH_4)_2SO_4$) al 80% de saturación. Se dejó en incubación por 24 h a 0 ºC. El precipitado se resuspendió con el volumen mínimo de tampón Tris-Acetato 20 mM, pH 6,0. Luego, se centrifugó a 13 000 rpm durante 15 min, obteniéndose un sobrenadante denominado como extracto clarificado (Curotto et al., 2007).

Posteriormente, para la sacarificación de los residuos agrícolas se prepararon frascos conteniendo 1,4 g de cada sustrato y se añadió 35 mL de las enzimas concentradas (120 U/L) diluidas en buffer fosfato 50 mM, pH 6,0. Las muestras fueron incubadas 30 °C ± 2 con agitación de 175 rpm. La determinación de azúcares reductores se realizó mediante el método de DNS (King et al., 2009) empleando la fórmula de la curva estándar de glucosa. Para la conversión de unidades de azúcares reductores por peso de residuo (mg/g) se empleó la siguiente fórmula (Ecuación 1):

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

$$\text{Azúcares reductores liberados } \left(\frac{\text{mg}}{\text{g}}\right) = \left(\frac{\left(\text{AR}\left({}^{\mu\text{g}}/_{\text{mL}}\right)*\text{E(mL)}*0.001\right)}{\text{S(g)}}\right) \text{ (Ecuación 1)}$$

Donde: AR: Azúcares reductores; E: extracto enzimático y S: sustrato.

2.7 Análisis estadístico

Los análisis se realizaron mediante el programa estadístico SPSS versión 20.1. Se aplicó ANOVA de dos factores para determinar diferencias significativas entre las actividades enzimáticas de cada cepa de hongo y prueba Duncan en cuanto a la liberación de azúcares (García et al., 2001). Los análisis se realizaron con un nivel de significancia de 0,01.

3. Resultados y discusión

3.1 Aislamiento de hongos

Se aislaron 7 cepas fúngicas bajo condiciones específicas de temperatura (30 °C) y pH 5,6, de estas se seleccionaron dos cepas llamadas AVS1 y PVS2, pertenecientes al género *Aspergillus* y *Penicillium,* respectivamente. Además, ambas cepas fueron seleccionadas en función a su mayor predominancia en el medio de cultivo selectivo, puesto que ello implica también mayor presencia de esos hongos en el suelo agrícola extraído.

3.2 Degradación de residuos agrícolas

En la figura 1 se muestra el análisis comparativo del porcentaje de degradación de los residuos agrícolas de espárrago, tomate y yuca, usando como microorganismos degradadores cepas de *Aspergillus* sp. AVS1 y *Penicillium* sp. PVS2.

Ambos microorganismos presentaron la capacidad de degradar los residuos agrícolas, usándolos como fuente de carbono, siendo los azúcares reductores cuantificados evidencia de la degradación. Se observaron los siguientes resultados: *Aspergillus* sp. AVS1 con respecto al xilano (100%): tomate a 216 h de cultivo (48%) fue mayor que el espárrago a 144 h de cultivo (41%) y el espárrago a 72 h (37%) (Figura 1A). Con respecto al CMC (100%) los mejores resultados de degradación fueron en residuos de tomate a

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

216 h de cultivo (53%), seguido del espárrago a 144 h (50%) y el espárrago a 216 h (42%) (Figura 1B). Se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas entre las medias de degradación de los tres residuos, con respecto al xilano y CMC, mediante análisis Duncan ($\alpha = 0,01$).

Para el *Penicillium* sp. PVS2 (Figuras 1C y 1D), los mejores resultados de degradación de los residuos agrícolas con respecto al xilano (100%) fueron el de espárrago a 72, 216 y a 144 h de cultivo, con 40%, 39% y 29%, respectivamente. Con respecto al CMC (100%), se observó la siguiente secuencia de mayor degradación: espárrago a 72 h de cultivo (51%) seguido del tomate a 144 h de cultivo (40%) y el tomate a 72 h de cultivo (36%). No se evidenció diferencia significativa en el porcentaje de degradación del residuo de yuca y tomate a las 144 h con respecto al xilano y CMC.

Se registraron mayor degradación de ambos hongos en residuos de espárrago y tomate, con respecto al xilano y CMC. Este resultado fue similar a lo reportado por Choudhary et al. (2016), quienes confirmaron que los aislamientos de *Aspergillus flavus* , *A. terreus* y *Penicillium janthinellum* tienen potencial de degradación de residuos provenientes del cultivo de arroz y trigo. Además, encontraron que los consorcios de hongos lignocelulolíticos que comprenden a *Aspergillus* y *Penicillium*, muestran una interacción compatible que puede resultar eficiente para la degradación de los residuos agrícolas. A*spergillus* sp. AVS1 fue el microorganismo con ligera mayor degradación de los tres residuos evaluados.

En contraste, diversos autores han reportado que *Penicillium* es uno de los géneros, además de *Aspergillus* y *Trichoderma*, con mayor diversidad de especies productoras de enzimas extracelulares implicadas en la degradación del xilano (Vaishnav et al., 2018), teniendo un papel dominante en la degradación de residuos de café (Corrêa et al., 2020;

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

Peña et al., 2017), residuos de caña de azúcar (Terrone et al., 2018), arroz (Castillo et al., 2019) y de residuos de *Radix isatidis* (Zhang et al., 2019).

Asimismo. Bardales et al. (2011) reportaron una concentración máxima de azúcares reductores totales de 7 g/L utilizando como sustrato residuos de espárrago "*Asparagus officinalis"* con *Candida utilis*, determinando que la producción de bioetanol está relacionada directamente con la concentración de azúcares reductores.

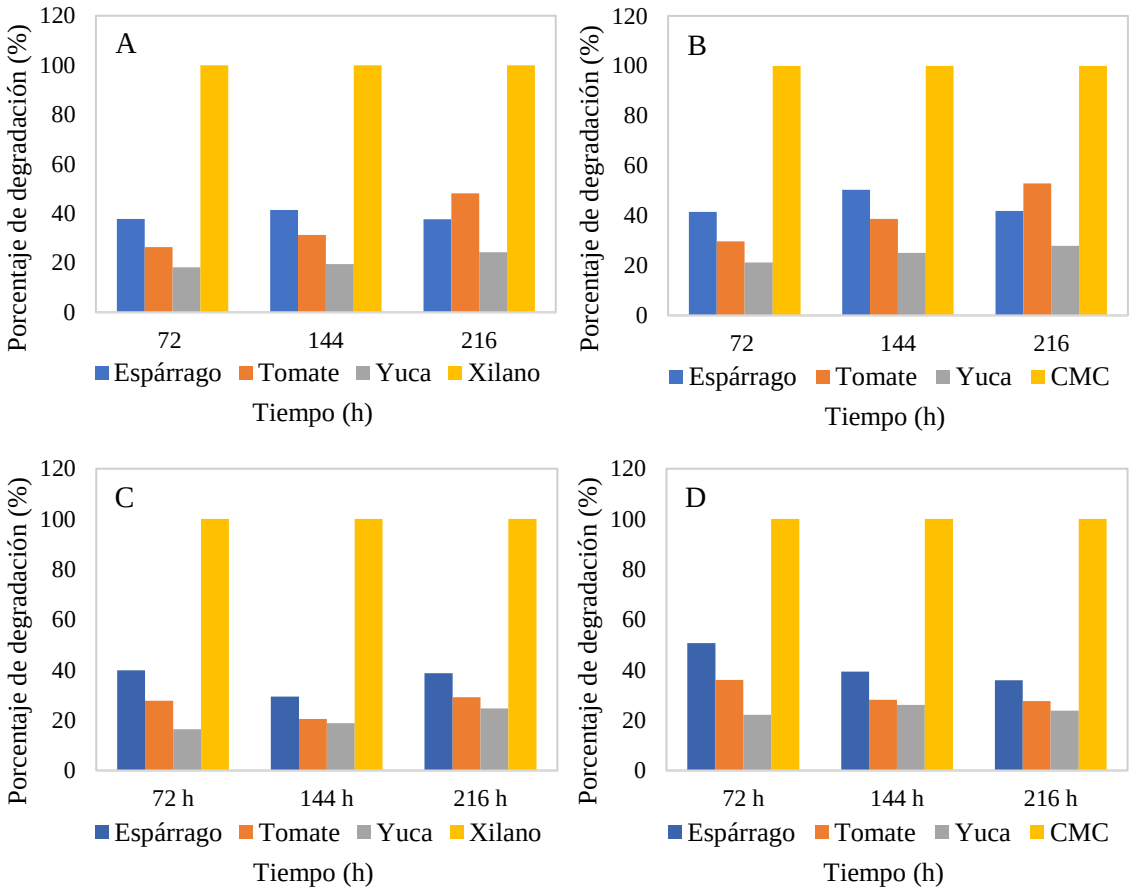


Figura 1. Degradación de residuos agrícolas del espárrago, tomate y yuca. A, *Aspergillus* sp. AVS1 con respecto al xilano; B, *Aspergillus* sp. AVS1 con respecto al CMC; C, *Penicillium* sp. PVS2 con respecto al xilano; D, *Penicillium* sp. PVS2 con respecto al CMC.

La mayor liberación de azúcares a las 72 h de cultivo y la disminución de este a las 216 h en ambos microrganismos registrados en este estudio puede deberse a que la producción

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

enzimática de los hongos está estrechamente relacionada con la liberación y obtención de suficiente cantidad de azúcares reductores, puesto que es su fuente de energía; y disminuyen a medida que los azúcares son metabolizados. Para Cruz et al. (2019), la actividad enzimática está directamente relacionada a la cantidad de moléculas que son transformadas, siendo esta acción regulada por la aparición del producto final de la reacción en el medio, inhibiendo la actividad enzimática del microorganismo. La alta degradación del xilano y CMC se debe principalmente por ser ambos compuestos orgánicos con alto grado de polimerización (Mccleary y Mcgeough, 2015).

3.3 Actividad enzimática

La actividad xilanasa y endoglucanasa de *Aspergillus* sp. AVS1 presentó un incremento y disminución significativa a partir de las 24 hasta las 120 h de cultivo en los tres sustratos evaluados (Figura 2). La mayor actividad enzimática xilanasa de este hongo (Figura 2A) se obtuvo con el sustrato de tomate (1456,16 U/L), seguido del espárrago (1268,10 U/L) y yuca (970,50 U/L). Asimismo, se evidenció que la actividad xilanasa de *Aspergillus* sp. AVS1 en cultivo de tomate y espárrago; y del tomate y yuca a las 72 h no tuvieron diferencias significativas. No se evidenció disminución significativa (α = 0,01) en la actividad xilanasa en los tres sustratos a las 96 y 120 h de análisis.

La mayor actividad endoglucanasa de *Aspergillus* sp. AVS1 (Figura 2B) se obtuvo con el sustrato de espárrago (1508,68 U/L), seguido del tomate (1305,35 U/L) y yuca (1110,35 U/L). La actividad endoglucanasa en el sustrato de yuca no presentó una diferencia significativa con respecto al sustrato de espárrago y tomate a las 96 h; del mismo modo, se evidenció en la actividad enzimática en sustrato de yuca y tomate a las 48 y 72 h, así como en el tomate y esparrago a las 48 h. No se evidenció disminución significativa (α = 0,01) en la actividad endoglucanasa en el sustrato de espárrago a las 96 y 120 h de análisis.

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

En cuanto a la actividad xilanasa y endoglucanasa de *Penicillium* sp. PVS2, se evidenció una diferencia significativa en todos los residuos agrícolas utilizados como sustrato. En la Figura 2 se observa un incremento significativo de la actividad xilanasa y endoglucanasa a las 120 h de cultivo en los tres residuos agrícolas evaluados y se evidencia la siguiente secuencia: tomate con 1540,38 U/L > espárrago con 1228,83 U/L > yuca con 990,12 U/L para la actividad xilanasa (Figura 2C) y espárrago con 1468,68 U/L > tomate con 1202,85 U/L > yuca con 902,011 para la actividad endoglucanasa (Figura 2D).

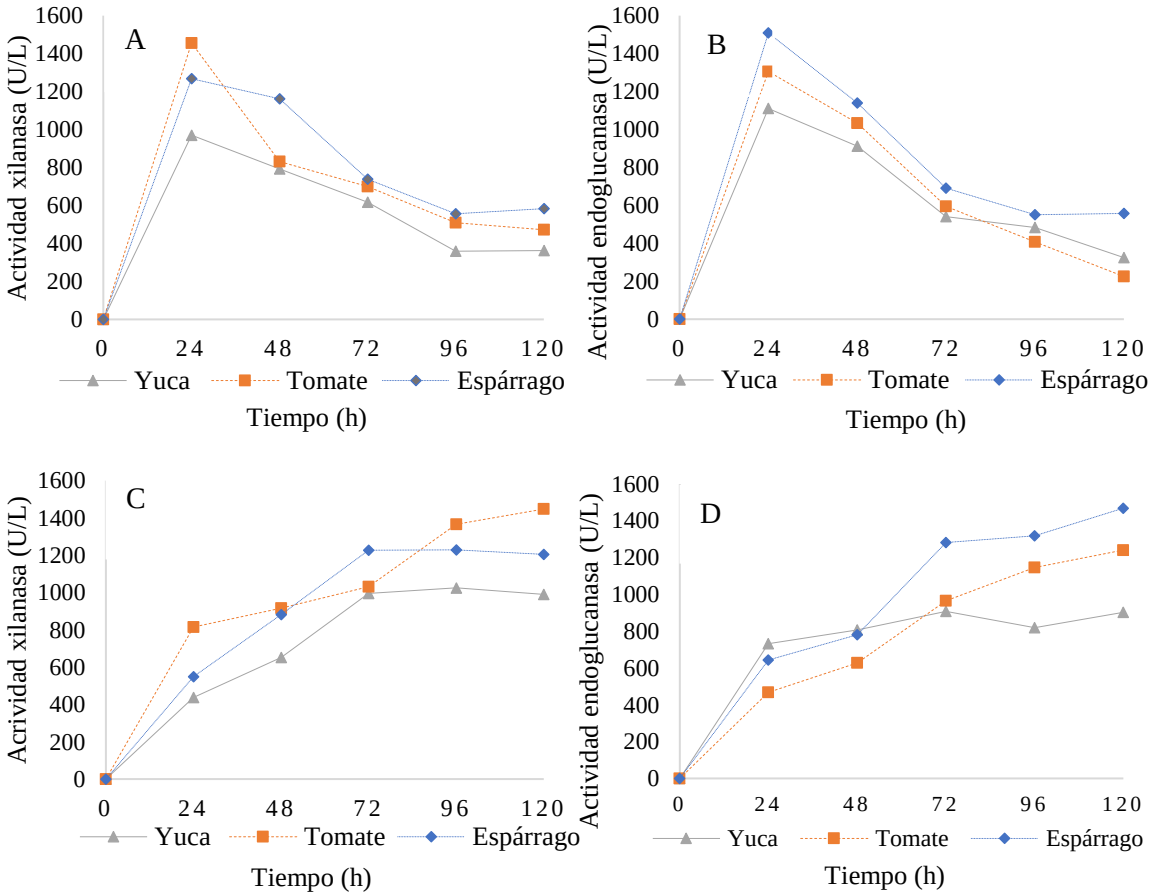


Figura 2. Actividad enzimática celulolítica y xilanolítica de *Aspergillus* sp. AVS1 y *Penicillium* sp. PVS2 en residuos agrícolas de yuca, tomate y espárrago. A, actividad xilanasa de *Aspergillus* sp. AVS1; B, actividad endoglucanasa del *Aspergillus* sp. AVS1;

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

C, actividad xilanasa del *Penicillium* sp. PVS2; D, actividad endoglucanasa del *Penicillium* sp. PVS2.

La actividad enzimática xilanasa y endoglucanasa del *Aspergillus* sp. AVS1 fue mayor al *Penicillium* sp. PVS2, lo cual se confirma con lo registrado por Cruz et al. (2009), quienes aislaron morfotipos de *Aspergillus* sp. y *Penicillium* sp. a partir de compost de residuos agrícolas, siendo el primer morfotipo el hongo con mayor actividad en xilano y celulosa, con valores de 55,46 nkat/s de endoxilanasa y 53,96 nkat/s de endoglucanasa. La actividad enzimática xilanolítica y celulolítica depende de diversos factores: la especie evaluada, temperatura, pH, composición del medio de fermentación: fuente de carbono, fuentes de nitrógeno orgánico e inorgánico y relación C/N (Andlar et al., 2018; Solis et al., 2020).

Tai et al. (2019) trabajaron con la misma cantidad de inóculo que en esta investigación ($1x10^6$ esporas/mL) y lograron optimizar las condiciones para la producción de celulasas y xilanasas extracelulares en *A. niger* DWA8 aplicando 75% (p/p) de contenido de humedad y 2,5 g de sustrato obteniendo como resultado la producción de 2,38 U/g; 5,23 U/g de endoglucanasas y xilanasas, respectivamente. En esta investigación, la actividad xilanasa de *Aspergillus* sp. AVS1 fue menor en comparación a lo registrado usando como fuente de carbono mazorcas de maíz (9364,1 U/L), aserrín (4124 U/L) (Ire et al., 2021) y bagazo de salvado de trigo (7000.0 U/L).

Por su parte Costa et al., (2010) obtuvieron 267,25 U/gSs de actividad xilanasa en residuos agroindustriales al cuarto día de fermentación. Blandino et al. (2006) con *A. awamori* sobre orujo de uva blanca reportaron una producción máxima de 14,79 U/gSs al primer día de fermentación. Mientras que Liu et al. (2021) registraron con *A. sulfureus* una alta actividad frente al xilano extraído de rastrojo de maíz, mazorca de maíz y harina

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

de colza, con concentraciones de 1592,26 µg/mL, 1149,92 µg/mL y 621,86 µg/mL, respectivamente.

El tomate y el espárrago usados como sustratos inductores obtuvieron mejores resultados de producción enzimática en ambos hongos evaluados y requirieron de un corto tiempo de incubación para la producción enzimática (24 h y 72 h). Algunos autores han evaluado la producción de exoinulinasa en residuos de *Asparagus officinalis* con *Kluyveromyces marxianus*, observando un rendimiento enzimático de 8420 U/L (Singh y Gill, 2006) y una producción enzimática de β-glucosidasa de 4882 U/L con *A. niger* (Simas et al., 2018). Por otro lado, se ha evaluado la producción de etanol y amilasas utilizando tallo, hojas y cáscaras de yuca (Heredia y Sánchez, 2020; Pooja et al., 2018). De acuerdo a lo reportado por Díaz (2019), *A. niger* LBM 134 alcanzó niveles de endoxilanasas máximos de 1600 U/L en sustrato de bagazo de yuca ;y 1800 U/L en harina de cáscara de yuca con *Saccharomyces cerevisiae* (Vilhalva et al., 2013), siendo ambos resultados superiores a lo registrado en esta investigación con *Aspergillus* sp. AVS1

Respecto a *Penicillium*, la enzima de endoglucanasa tuvo la mayor actividad enzimática con 1468.69 U/L. Este resultado es inferior a los resultados de Aguilar (2017) quien reportó una actividad xilanolítica de 6711 U/L usando de sustrato bagazo de caña al día 10 de fermentación y 5010 U/L en pulpa de café al 6 día. Por su parte, Peña et al. (2017) reportaron que la actividad de endoglucanasa alcanzó su punto máximo a las 192 h y la actividad xilanasa a las 168 h con actividades de 0,924 U/g y 1,183 U/g, respectivamente. Por otro lado, en otros estudios se reportaron una producción máxima de xilanasas de 14,765 U/g en sustrato de pulpa cruda de café y *P. citrinum* (Murthy y Naidu, 2012) y máxima actividad celulolítica de 0.1 nKats al día 8 de fermentación (Mikán y Castellanos, 2004).

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

Cruz et al. (2019) estudiaron la producción de enzimas celulolíticas a partir de hongos filamentosos utilizando CMC como única fuente de carbono, siendo la producción enzimática de 356 U/L a las 48 h de incubación. A diferencia de este estudio, se debe considerar que usaron el sustrato comercial CMC como fuente de carbono y no residuos agrícolas pretratados, lo cual permite que la actividad enzimática sea más eficiente, siendo la principal desventaja su elevado costo limitando su uso a mayor escala. Comparando con los resultados del presente estudio, las cepas de *Aspergillus* y *Penicillium* registraron actividad enzimática de endoglucanasa de 1508,69 U/L en sustrato de espárrago a las 24 h y tomate con 1468,69 U/L a las 120 h, respectivamente; siendo los residuos agrícolas más eficientes como fuentes de carbono para la producción enzimática que el CMC.

3.4 Sacarificación de residuos agrícolas usando extractos enzimáticos

Para la sacarificación se seleccionó el extracto enzimático *Aspergillus* sp. AVS1 usando espárrago a las 24 h de fermentación denominado como E24H-A y el cultivo *Penicillium* sp. PVS2 usando tomate a las 120 h denominado como T120H-P. En la sacarificación de ambos extractos enzimáticos, la producción enzimática usando xilano como sustrato fue muy diferente cuando se usó CMC, siendo ambos sustratos comerciales. En la Figura 3A se puede observar una tendencia al aumento en la liberación de azúcares en los cinco sustratos conforme pasan los días de fermentación, teniendo a los 4 días los siguientes valores: xilano (142,91 mg/g), tomate (96,16 mg/g), espárrago (66,15 mg/g), CMC (61,32 mg/g), yuca (39,77 mg/g).

En la sacarificación con el extracto T120H-P, se encontró la siguiente secuencia de liberación de azúcares reductores (Figura 5): xilano (146,90 mg/g), tomate (128,74 mg/g), espárrago (69,70 mg/g), CMC (30,95 mg/g) y yuca (28,14 mg/g). De ambos extractos evaluados, la sacarificación del extracto T120H-P en tomate presentó mayor liberación de azúcares en comparación al espárrago y yuca. La liberación de azúcares del extracto

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

enzimático del *Penicillium* sp. PVS2 resultó similar a la sacarificación usando xilanasa a partir de *Thermomyces lanuginosus* VAPS-24 en paja de arroz pretratada (126,89 mg/g), reportado por Kumar et al. (2017). Igualmente coincide con la evaluación reportada por Xu et al., (2017) quienes mediante la sacarificación de paja de trigo y arroz con extracto de enzimas celulolíticas obtuvieron una producción de azúcares de 130,24 mg/g y 125,36 mg/g, respectivamente, a las 48 h de hidrólisis; y rendimientos de alrededor de 128-180 mg/g en la sacarificación de mazorca de maíz, cáscara de arroz y cáscara de maní (Ferraz et al., 2017).

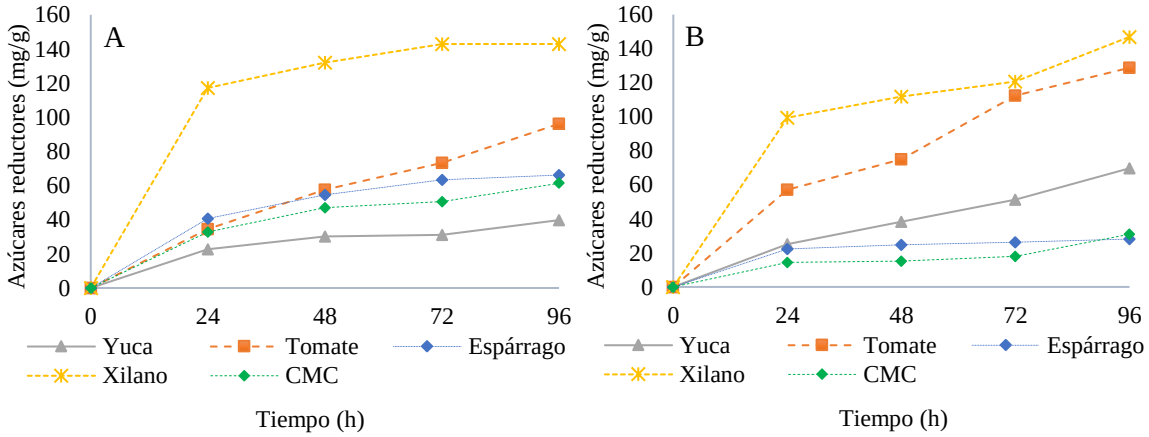


Figura 3. Sacarificación usando el extracto enzimático en sustratos de yuca, tomate, espárrago, xilano y CMC. A, E24H-A; B, T120H-P.

Asimismo, resultó relativamente superior a lo reportado por Trivedi et al. (2015) quienes tras la sacarificación de biomasa de algas marinas usando celulasa producida por el hongo marino *Cladosporium sphaerospermum*, obtuvieron un rendimiento máximo de azúcar de 112 ± 10 mg/g de peso en seco en condiciones de 60% de humedad, cultivado a 25 °C y pH 4,0 durante 4 días. Los factores que pueden influir en la sacarificación son las distintas metodologías aplicadas para la obtención de enzimas, en el estudio anteriormente mencionado emplean la fermentación en estado sólido (SSF) y contaron con distintos parámetros para la optimización de sus cultivos, así como diferentes

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

dosificaciones enzimáticas, mientras que en el presente estudio se utilizó fermentación líquida sumergida.

4. Conclusiones

El *Aspergillus* y *Penicillium* son géneros fúngicos capaces de degradar residuos agrícolas de espárrago, tomate y yuca: donde el *Aspergillus* sp. AVS1 liberó aproximadamente el 53% de azúcares reductores en tomate a 216 h de cultivo y *Penicillium* sp. PVS2 liberó hasta el 51% de azúcares reductores en espárrago a 72 h, ambos con respecto al CMC (100%). En relación con la actividad enzimática, se produjo una disminución significativa de la actividad endoglucanasa en todos los residuos agrícolas a las 120 h de cultivo para *Aspergillus* sp. AVS1 y un incremento a las 120 h para el *Penicillium* sp., PVS2 se evidenció el mismo comportamiento en la actividad xilanasa.

Finalmente, los resultados de sacarificación (degradación) usando extractos enzimáticos sin microorganismos mostraron que las enzimas de ambos hongos tienen la capacidad de degradar residuos agrícolas pretratados: donde el tomate presentó la máxima liberación de azúcares reductores con el extracto enzimático de *Penicillium* sp. PVS2 incubado a 96 h (T120H-P). Los residuos orgánicos derivados de las actividades agrícolas poseen un alto potencial de reaprovechamiento para la producción enzimas xilanolíticas y celulolíticas; y de biocombustibles, como el bioetanol de segunda generación.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Fondo Beca Cabieses 2020 por financiar esta investigación a través de la Resolución Directoral Académica N°114-2020-DACIA-DAFCA-U. CIENTÍFICA. y a la Universidad Científica del Sur por brindar las facilidades para la ejecución de esta investigación.

ORCID

J. Vargas-Solis https://orcid.org/0000-0002-7147-5009

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

M. Sulca-López https://orcid.org/0000-0001-9056-0068

Ó. Reátegui-Arévalo https://orcid.org/0000-0001-9773-2176

Referencias bibliográficas

Aguilar, O. (2017). *Estudio de expresión de la actividad xilanolítica de Penicillium sp. CGECOCR en bagazo de caña de azúcar y pulpa de café* [Trabajo de grado, Universidad Autónoma de Chiapas]. https://sii.ecosur.mx/Content/ProductosActividades/archivos/27862/textocompleto0.pdf

Andlar, M., Rezić, T., Marđetko, N., Kracher, D., Ludwig, R., y Šantek, B. (2018). Lignocellulose degradation: An overview of fungi and fungal enzymes involved in lignocellulose degradation. *Engineering in Life Sciences*, *18*(11), 768-778.

Baray, M., Porras, D., Hoffman, H., y Manjarrez, C. (2019). Tratamiento de la biomasa lignocelulósica mediante la pirolisis lenta y a baja temperatura para la producción de biocombustibles. *Revista de Energías Renovables*, *3*(9), 1-9. https://doi.org/10.35429/JRE.2019.9.3.1.9

Bardales, C., León, C., Mostacero, J., Arellano, J., Nomberto, C., Salazar, M., Pretel, O., Martin, E., y Barrena, M. (2011). Producción de bioetanol del desecho lignocelulósico «peladilla» de *Asparagus officinalis* « esparrago» por *Candida utilis var. Major*. CECT 1430. *Ucv-Scientia*, *3*(2). https://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/5911

Blandino, A., Botella, C., De Ory, I., Webb, C., y Cantero, D. (2005). Hydrolytic enzyme production by *Aspergillus awamori* on grape pomace. *Biochemical Engineering Journal*, *26*, 100-106.

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

Castillo, Y., Juscamaita, J., Jorge, P., y Visitación, L. (2019). Pretratamiento e hidrólisis enzimática de la cascarilla de arroz. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, *85*(4), 476-488.

Chakdar, H., Kumar, M., Pandiyan, K., Singh, A., Nanjappan, K., Lal, P., y Kumar, A. (2016). Bacterial xylanases: biology to biotechnology. *3 Biotecnología*, *6*, 150. https://doi.org/10.1007/s13205-016-0457-z

Choudhary, M., Sharma, P., Jat, H., Nehra, V., McDonald, A., y Garg, N. (2016). Crop residue degradation by fungi isolated from conservation agriculture fields under rice – wheat system of North-West India. *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture*, *5*(4), 349-360.

Corrêa, C., Penha, E., Freitas-Silva, O., Luna, A., y Gottschalk, L. (2020). Enzymatic Technology Application on Coffee Co-products: A Review. *Waste and Biomass Valorization*, *12*(7), 3521-3540.

Costa, M., Torres, M., Magariños, H., y Reyes, A. (2010). Producción y purificación parcial de enzimas hidrolíticas de *Aspergillus ficuum* en fermentación sólida sobre residuos agroindustriales. *Revista Colombiana de Biotecnología*, *12*(2), 163-175.

Cruz, M., Cruz, L., Flores, M., Castelo, M., y Belmares, R. (2019). Evaluación de hongos filamentosos para la producción de enzimas celulolíticas. *e-Gnosis*, *2*.

Cruz, N., Castellanos, D., y Arguello, H. (2009). Degradación de celulosa y xilano por microorganismos aislados de dos tipos de compost de residuos agrícolas en la Sabana de Bogotá. *La Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, *3(2)*, 237-249.

Curotto, E., Dondero, M., y Muñoz, C. (2007). Extracción, caracterización parcial y termoestabilidad de la enzima transglutaminasa en surimi, en músculo blanco de

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

jurel y en miofibrillas de carne de vacuno. *Información tecnológica*, *18*(3), 3-12.

Díaz, G. (2019). *Producción de xilanasas a partir de* Aspergillus *nativos de Misiones (Argentina) y su potencial aplicación en la hidrólisis de residuos agroindustriales* [Trabajo de doctorado, Universidad Nacional de Misiones]. https://rid.unam.edu.ar/handle/20.500.12219/2381

Ferraz, J., Oliveira, L., Amarante, G., Pereira, J., Rangel, J., Aguiar, E., y Franco, M. (2017). Enzymatic saccharification of lignocellulosic residues using cellulolytic enzyme extract produced by Penicillium roqueforti ATCC 10110 cultivated on residue of yellow mombin fruit. *Bioresource Technology*, *248*, 214-220.

García, J., Castillo, A., Ramírez, M., Elva, M., Rendón, G., y Larqué, M. (2001). Comparación de los procedimientos de Tukey, Duncan, Dunnett, Hsu y Bechhofer para selección de medias. *Agrociencia*, *35*(1), 79-86.

Ghose, T. (1987). Measurement of cellulase activities. *Pure and Applied Chemistry*, *59*(2), 257-268.

González, A., Del Angel, J., González, J., Rodríguez, N., y Bustos, G. (2017). Evaluación de levaduras nativas productoras de etanol presentes en el bagazo de caña de azúcar. *CienciaUAT*, *11*(2), 80-92.

Gutiérrez, I., Moreno, N., y Montoya, D. (2015). Mecanismos y regulación de la hidrólisis enzimática de celulosa en hongos filamentosos: casos clásicos y nuevos modelos. *Revista Iberoamericana de Micología*, *32*(1), 1-12.

Heredia, J., y Sánchez, E. (2020). Evaluación de residuos de cáscaras de plátano y yuca para la producción de amilasas a partir de *Bacillus amyloliquefaciens* A16. *Biotecnología Aplicada*, *37*(4), 3201-3205.

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

Ibarra, R. (2018). El impulso de las energías renovables en la lucha contra el cambio climático a través de los certificados ambientales en el sector eléctrico mexicano. *Boletín Mexicano de Derecho Comparado*, *1*(152), 569-597.

Ire, F., Chima, I., y Ezebuiro, V. (2021). Enhanced xylanase production from UV-mutated *Aspergillus niger* grown on corn cob and sawdust. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *31*, 101869.

Izarra, M., Santayana, M., Villena, G., y Gutiérrez, M. (2010). Influencia de la concentración de inóculo en la producción de celulasa y xilanasa por *Aspergillus niger* . *Revista Colombiana de biotecnología*, *12*(2), 139-150.

King, B., Donnelly, M., Bergstrom, G., Walker, L., y Gibson, D. (2009). An Optimized Microplate Assay System for Quantitative Evaluation of Plant Cell Wall-Degrading Enzyme Activity of Fungal Culture Extracts. *Biotechnology and Bioengineering*, *102*(4), 1033-1044.

Kumar, V., Chhabra, D., y Shukla, P. (2017). Xylanase production from *Thermomyces lanuginosus* VAPS-24 using low cost agro-industrial residues via hybrid optimization tools and its potential use for saccharification. *Bioresource Technology*, *243*, 1009-1019.

Lamichhane, G., Acharya, A., Poudel, D. K., Aryal, B., Gyawali, N., Niraula, P., Phuyal, S. R., Budhathoki, P., Bk, G., y Parajuli, N. (2021). Recent advances in bioethanol production from Lignocellulosic biomass. *International Journal of Green Energy*, *18*(7), 731-744.

Liu, Y., Wang, J., Bao, C., Dong, B., y Cao, Y. (2021). Characterization of a novel GH10 xylanase with a carbohydrate binding module from *Aspergillus sulphureus* and its

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

synergistic hydrolysis activity with cellulase. *International Journal of Biological Macromolecules*, *182*, 701-711.

Madigan, M., Martinko, J., y Parker, J. (2000). Biología de los microorganismos. *Editorial Pearson Educación*.

Mccleary, B., y Mcgeough, P. (2015). A comparison of polysaccharide substrates and reducing sugar methods for the measurement of endo -1 , 4 - β - Xylanase. *Appl Biochem Biotechnol*, *177*, 1152-1163.

Mikán, J., y Castellanos, E. (2004). Screening para el aislamiento y caracterización de microorganismos y enzimas potencialmente útiles para la degradación de celulosas y hemicelulosas. *Revista Colombiana de Biotecnología*, *6*(1), 58-71.

Monserrate, A., Zambrano, D., Rondón, A., Laurencio, M., Pérez, M., León, R., y Rivera, R. (2014). Aislamiento , selección y caracterización de hongos celulolíticos a partir de muestras de suelo en Manabí-Ecuador. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*, *46*(2), 177-189.

Murthy, P., y Naidu, M. (2012). Production and Application of Xylanase from *Penicillium* sp. Utilizing Coffee By-products. *Food and Bioprocess Technology*, *5*(2), 657-664. https://doi.org/10.1007/S11947-010-0331-7

Noel, J., Rodríguez, G., y Pérez-Díaz, B. (2014). Factores previos involucrados en la producción de bioetanol, aspectos a considerar. *Revista internacional de contaminación ambiental*, *30*(2), 213-227.

Peña, M., Calixto, M., Guilllén, K., Sánchez, J., y Amaya, L. (2017). Cellulases and xylanases production by Penicillium citrinum CGETCR using coffee pulp in solid state fermentation. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, *16*(3), 757-769.

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

Pooja, N., Sajeev, M., Jeeva, M., y Padmaja, G. (2018). Bioethanol production from microwave-assisted acid or alkali-pretreated agricultural residues of cassava using separate hydrolysis and fermentation (SHF). *3 Biotech*, *8*(1), 69.

Porras, Á. C., y González, A. R. (2016). Aprovechamiento de residuos orgánicos agrícolas y forestales en Iberoamérica. *Academia y Virtualidad*, *9*(2), 90-107.

Simas, D., Acevedo, L., Vasconcelos, U., y Pereira, N. (2018). Characterization of β-glucosidases produced by *Aspergillus niger* ATCC 1004 in submerged fermentation from sugarcane bagasse. *Revista Mexicana de Ingeniera Quimica*, *17*(1), 365-377.

Singh, P., y Gill, P. (2006). Production of inulinases: Recent advances. *Food Technology and Biotechnology*, *44*(2), 151-162.

Solis, T., Calderón, C., y Liu, Y. (2020). Optimización de la Producción de Xilanasa Bacteriana a Partir de *Bacillus sp. K1* con el Uso de Residuos Lignocelulósicos. *Revista Técnica «Energía»*, *16*(2), 126-134.

Tai, W. Y., Tan, J. S., Lim, V., y Lee, C. K. (2019). Comprehensive studies on optimization of cellulase and xylanase production by a local indigenous fungus strain via solid state fermentation using oil palm frond as substrate. *Biotechnology Progress*, *35*(3).

Tejeda, L., Quintana, J., Pérez, J., y Young, H. (2011). Obtención de etanol a partir de residuos de poda, mediante hidrólisis ácida e hidrólisis enzimática. *Revista U.D.C.A Actualidad y Divulgación Científica*, *14*(1), 111-116.

Terrone, C., Freitas, C., Terrasan, C., Almeida, A., y Carmona, E. (2018). Agroindustrial biomass for xylanase production by Penicillium chrysogenum: Purification, biochemical properties and hydrolysis of hemicelluloses. *Electronic Journal of*

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

Biotechnology, *33*, 39-45.

Trivedi, N., Reddy, C., Radulovich, R., y Jha, B. (2015). Solid state fermentation (SSF) -derived cellulase for sacchari fi cation of the green seaweed Ulva for bioethanol production. *Algal Research*, *9*, 48-54.

Vaishnav, N., Singh, A., Adsul, M., Dixit, P., Sandhu, S. K., Mathur, A., Puri, S. K., y Singhania, R. R. (2018). *Penicillium*: The next emerging champion for cellulase production. *Bioresource Technology Reports*, *2*, 131-140.

Vilhalva, D., Soares, J., de Faria, F., Castiglioni, G., Caliari, M., y da Silva, F. (2013). Production of brandy from cassava starch industry waste. *Interciencia*, *38*(11), 808-813.

Xu, X., Lin, M., Zang, Q., y Shi, S. (2017). Solid state bioconversion of lignocellulosic residues by *Inonotus obliquus* for production of cellulolytic enzymes and saccharification. *Bioresource Technology*, *247*, 88-95.

Zhang, S., Chang, S., Xiao, P., Qiu, S., Ye, Y., Li, L., Guoa, S., Duan, J., y Yan, H. (2019). Enzymatic in situ saccharification of herbal extraction residue by a medicinal herbal-tolerant cellulase. *Bioresource Technology*, *287*, 121417.

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

Anexos

COMITÉ INSTITUCIONAL DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN CON ANIMALES Y BIODIVERSIDAD

UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

Constancia N° 053-CIEI-AB-CIENTÍFICA-2020

El presidente del Comité Institucional de Ética en Investigación con Animales y Biodiversidad de la Universidad Científica del Sur (CIEI-AB-CIENTÍFICA) da constancia que el proyecto de investigación, cuyos datos se registran a continuación, ha sido **aprobado**.

Código de registro:	**437-2019-PRE11**
Título:	**Degradación de residuos orgánicos agrícolas mediante hongos xilanolíticos y celulolíticos de interés para la producción de energía limpia**
Investigador(a):	**Jasmin Yairsa Vargas Solis**

La aprobación del proyecto de investigación implica que el documento presentado a evaluación cumple con los lineamientos de Universidad en materia de investigación y ética, los cuales se sustentan en la normativa internacional vigente.

En tal sentido, esta aprobación carecerá de valor si es que el proyecto de investigación arriba indicado es modificado de cualquier forma. Toda enmienda, añadido, eliminación o eventualidad (eventos adversos, etc.) posterior a la fecha de aprobación debe ser reportado al CIEI-AB-CIENTÍFICA.

La vigencia de la aprobación de este documento es de dieciocho (18) meses (**hasta el 24 de noviembre del 2021**), periodo en el que puede desarrollarse el proyecto. Cualquier trámite para su renovación deberá ser enviado antes del término de la vigencia de este documento, debiendo suspenderse todo desarrollo hasta que la renovación sea aprobada.

Villa El Salvador, 25 de mayo de 2020

UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR - UCSUR - Comité Institucional de Ética en Investigación con Animales y Biodiversidad

Méd. Vet. Gianmarco Paolo Rojas Moreno
Presidente
Comité Institucional de Ética en Investigación
con Animales y Biodiversidad

Asesoría al postulante
T //(511) 610 6738
informes@cientifica.edu.pe
• Campus Villa 2 - Panamericana Sur km 19
• Calle Cantuarias 398, Miraflores

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

RESOLUCIÓN DIRECTORAL ACADÉMICA DE CARRERA N°114-2020-DACIA-DAFCA-U.CIENTÍFICA.

FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES
CARRERA DE INGENIERÍA AMBIENTAL

Lima 30 de junio de 2020

VISTO:
El informe de revisión independiente académica y la aprobación de un Comité de Ética del proyecto de tesis titulado: **Degradación de residuos orgánicos agrícolas mediante hongos xilanolíticos y celulolíticos de interés para la producción de energía limpia**, presentado por:

- **Jasmin Yairsa Vargas Solis**

CONSIDERANDO:
Que, de acuerdo al Reglamento General de la Universidad Científica del Sur y los reglamentos de pregrado para obtener el título profesional de **Ingeniera Ambiental** en la **Facultad de Ciencias Ambientales**, se debe desarrollar un trabajo de investigación.

Que, de acuerdo a la normativa vigente de la Universidad Científica del Sur, en uso de las atribuciones conferidas al Director Académico de Carrera.

SE RESUELVE:
Aprobar e inscribir el proyecto de tesis titulado: **Degradación de residuos orgánicos agrícolas mediante hongos xilanolíticos y celulolíticos de interés para la producción de energía limpia** con N° de registro: **437-2019-PRE11**, y establecer el inicio del periodo de ejecución del mencionado proyecto.

Nombrar al docente/colaborador **Marcos Alejandro Sulca Lopez** como asesor para el desarrollo de la tesis en cuestión.

Regístrese, comuníquese y archívese.

Documento firmado digitalmente
Mg. Gonzalo Francisco Flores Roca
Director Académico
Carrera de Ingeniería Ambiental

T // (511) 610-0750
informes@cientifica.edu.pe
cientifica.edu.pe

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

Instrumentos usados en la investigación

1. **Recolección y pretratamiento de los residuos**
   - 1 paquete de bolsa de polietileno
   - Bolsas ziploc
   - Hidróxido de sodio
   - Sulfato de calcio
   - Centrifugadora
   - Tamizador de 2mm

2. **Aislamiento y selección de microorganismos**
   - Placas Petri
   - Agar Sabouraud
   - Tubos de ensayo
   - Pipeta y propipeta
   - Beaker 1000 ml, 250 ml, 100 ml
   - Termoagitador magnético
   - Autoclave
   - Microscopio
   - Baño María

3. **Preparación del inóculo y del medio de cultivo**
   - Matraces Erlenmeyer
   - Caldo patata dextrosa
   - Cámara de Neubauer
   - KH2PO4, 2g
   - (NH4)2SO4, 1,4g
   - Urea, 0,3 g
   - CaCl2.2H2O, 0,3 g
   - MgSO4.7H2O, 0,3 g
   - peptona, 1 g
   - Tween 80, 2 mL
   - FeSO4.7H2O, 5 mg
   - MnSO4.2H2O, 1,6 mg
   - ZnSO4.7H2O, 1,4 mg
   - CoCl2.6H2O, 2 mg

4. **Determinación de la capacidad degradativa de los residuos agrícolas**
   - Papel filtro Whatman N° 1
   - Filtro milliporo 2 um
   - glucosa anhidra (Estándar de carbohidratos
   - Xilosa anhidra (Estándar de carbohidratos)
   - Reactivo DNS
   - Lector Elisa
   - Microplaca de 96 pozos

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

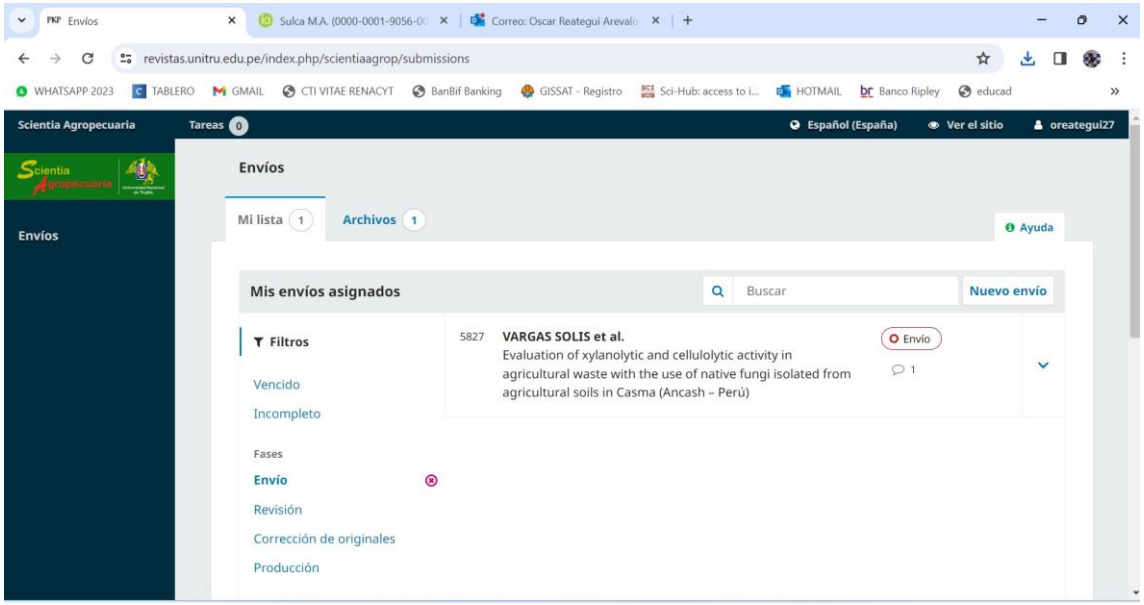
TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

5. **Determinación de la actividad enzimática**
   - Lector Elisa
   - Microplaca de 96 pozos

6. **Sacarificación de los extractos enzimáticos con mayor actividad enzimática**
   - Tubos de micro-centrifugación
   - Microcentrifugadora
   - Filtros para centrifuga amilcon ultra 15
   - Baño maría con agitación
   - Xilano de madera de abedul
   - carboximetilcelulosa (CMC)

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR



Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

RESOLUCIÓN DIRECTORAL ACADÉMICA DE CARRERA N° 021 -2022-DACIA-DAFCA-U. CIENTIFICA

FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES
CARRERA DE INGENIERÍA AMBIENTAL

Lima 08 de febrero del 2022

VISTO:
La Resolución Directoral Académica de Carrera N°114-2020-CIEI-AB-CIENTIFICA de aprobación del proyecto de tesis titulado: **Degradación de residuos orgánicos agrícolas mediante hongos xilanolíticos y celulolíticos de interés para la producción de energía limpia,** con N° de registro: **437-2019-PRE11,** presentado por:

- **Jasmin Yairsa Vargas Solis**

asesorado por**:**

- **Marcos Alejandro Sulca Lopez**

CONSIDERANDO:
Que, de acuerdo al Reglamento General de la Universidad Científica del Sur y los reglamentos de pregrado para obtener el título profesional de **Ingeniera Ambiental** en la **Facultad de Ciencias Ambientales**, se debe desarrollar un trabajo de investigación.

Que, de acuerdo a la normativa vigente de la Universidad Científica del Sur, en uso de las atribuciones conferidas al Director Académico de Carrera.

SE RESUELVE:
Nombrar al docente/colaborador **Oscar Reátegui Arévalo** como Co-asesor para el desarrollo de la tesis en cuestión.

Regístrese, comuníquese y archívese,

Dr. Gonzalo Francisco Flores Roca
Director Académico
Carrera de Ingeniería Ambiental