

Estudos em Biociências e Biotecnologia:

Desafios, Avanços
e Possibilidades

Manuel Simões
(organizador)

 EDITORA
ARTEMIS
2023

VOL III

Estudos em Biociências e Biotecnologia:

Desafios, Avanços
e Possibilidades

Manuel Simões
(organizador)

VOL III

 EDITORA
ARTEMIS
2023



O conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição Creative Commons Atribuição-Não-Comercial NãoDerivativos 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0). Direitos para esta edição cedidos à Editora Artemis pelos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento, desde que sejam atribuídos créditos aos autores, e sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

A responsabilidade pelo conteúdo dos artigos e seus dados, em sua forma, correção e confiabilidade é exclusiva dos autores. A Editora Artemis, em seu compromisso de manter e aperfeiçoar a qualidade e confiabilidade dos trabalhos que publica, conduz a avaliação cega pelos pares de todos manuscritos publicados, com base em critérios de neutralidade e imparcialidade acadêmica.

Editora Chefe	Prof. ^a Dr. ^a Antonella Carvalho de Oliveira
Editora Executiva	M. ^a Viviane Carvalho Mocellin
Direção de Arte	M. ^a Bruna Bejarano
Diagramação	Elisangela Abreu
Organizador	Prof. Dr. Manuel Simões
Imagem da Capa	Vivilweb/123RF
Bibliotecário	Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422

Conselho Editorial

Prof.^a Dr.^a Ada Esther Portero Ricol, *Universidad Tecnológica de La Habana “José Antonio Echeverría”*, Cuba
Prof. Dr. Adalberto de Paula Paranhos, Universidade Federal de Uberlândia, Brasil
Prof. Dr. Agustín Olmos Cruz, *Universidad Autónoma del Estado de México*, México
Prof.^a Dr.^a Amanda Ramalho de Freitas Brito, Universidade Federal da Paraíba, Brasil
Prof.^a Dr.^a Ana Clara Monteverde, *Universidad de Buenos Aires*, Argentina
Prof.^a Dr.^a Ana Júlia Viamonte, Instituto Superior de Engenharia do Porto (ISEP), Portugal
Prof. Dr. Ángel Mujica Sánchez, *Universidad Nacional del Altiplano*, Peru
Prof.^a Dr.^a Angela Ester Mallmann Centenaro, Universidade do Estado de Mato Grosso, Brasil
Prof.^a Dr.^a Begoña Blandón González, *Universidad de Sevilla*, Espanha
Prof.^a Dr.^a Carmen Pimentel, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil
Prof.^a Dr.^a Catarina Castro, Universidade Nova de Lisboa, Portugal
Prof.^a Dr.^a Cirila Cervera Delgado, *Universidad de Guanajuato*, México
Prof.^a Dr.^a Cláudia Neves, Universidade Aberta de Portugal
Prof.^a Dr.^a Cláudia Padovesi Fonseca, Universidade de Brasília-DF, Brasil
Prof. Dr. Cleberton Correia Santos, Universidade Federal da Grande Dourados, Brasil
Prof. Dr. David García-Martul, *Universidad Rey Juan Carlos de Madrid*, Espanha
Prof.^a Dr.^a Deuzimar Costa Serra, Universidade Estadual do Maranhão, Brasil
Prof.^a Dr.^a Dina Maria Martins Ferreira, Universidade Estadual do Ceará, Brasil
Prof.^a Dr.^a Edith Luévano-Hipólito, *Universidad Autónoma de Nuevo León*, México
Prof.^a Dr.^a Eduarda Maria Rocha Teles de Castro Coelho, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Portugal
Prof. Dr. Eduardo Eugênio Spers, Universidade de São Paulo (USP), Brasil
Prof. Dr. Eloi Martins Senhoras, Universidade Federal de Roraima, Brasil
Prof.^a Dr.^a Elvira Laura Hernández Carballido, *Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo*, México



Prof.ª Dr.ª Emilas Darlene Carmen Lebus, *Universidad Nacional del Nordeste/ Universidad Tecnológica Nacional, Argentina*
Prof.ª Dr.ª Erla Mariela Morales Morgado, *Universidad de Salamanca, Espanha*
Prof. Dr. Ernesto Cristina, *Universidad de la República, Uruguay*
Prof. Dr. Ernesto Ramírez-Briones, *Universidad de Guadalajara, México*
Prof. Dr. Fernando Hitt, *Université du Québec à Montréal, Canadá*
Prof. Dr. Gabriel Díaz Cobos, *Universitat de Barcelona, Espanha*
Prof.ª Dr.ª Gabriela Gonçalves, Instituto Superior de Engenharia do Porto (ISEP), Portugal
Prof. Dr. Geoffroy Roger Pointner Malpass, Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Brasil
Prof.ª Dr.ª Gladys Esther Leoz, *Universidad Nacional de San Luis, Argentina*
Prof.ª Dr.ª Glória Beatriz Álvarez, *Universidad de Buenos Aires, Argentina*
Prof. Dr. Gonçalo Poeta Fernandes, Instituto Politécnico da Guarda, Portugal
Prof. Dr. Gustavo Adolfo Juarez, *Universidad Nacional de Catamarca, Argentina*
Prof. Dr. Håkan Karlsson, *University of Gothenburg, Suécia*
Prof.ª Dr.ª Iara Lúcia Tescarollo Dias, Universidade São Francisco, Brasil
Prof.ª Dr.ª Isabel del Rosario Chiyon Carrasco, *Universidad de Piura, Peru*
Prof.ª Dr.ª Isabel Yohena, *Universidad de Buenos Aires, Argentina*
Prof. Dr. Ivan Amaro, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Brasil
Prof. Dr. Iván Ramon Sánchez Soto, *Universidad del Bío-Bío, Chile*
Prof.ª Dr.ª Ivânia Maria Carneiro Vieira, Universidade Federal do Amazonas, Brasil
Prof. Me. Javier Antonio Albornoz, *University of Miami and Miami Dade College, Estados Unidos*
Prof. Dr. Jesús Montero Martínez, *Universidad de Castilla - La Mancha, Espanha*
Prof. Dr. João Manuel Pereira Ramalho Serrano, Universidade de Évora, Portugal
Prof. Dr. Joaquim Júlio Almeida Júnior, UniFIMES - Centro Universitário de Mineiros, Brasil
Prof. Dr. Jorge Ernesto Bartolucci, *Universidad Nacional Autónoma de México, México*
Prof. Dr. José Cortez Godínez, Universidad Autónoma de Baja California, México
Prof. Dr. Juan Carlos Cancino Diaz, Instituto Politécnico Nacional, México
Prof. Dr. Juan Carlos Mosquera Feijoo, *Universidad Politécnica de Madrid, Espanha*
Prof. Dr. Juan Diego Parra Valencia, *Instituto Tecnológico Metropolitano de Medellín, Colômbia*
Prof. Dr. Juan Manuel Sánchez-Yáñez, *Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, México*
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil
Prof. Dr. Leinig Antonio Perazolli, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Brasil
Prof.ª Dr.ª Livia do Carmo, Universidade Federal de Goiás, Brasil
Prof.ª Dr.ª Luciane Spanhol Bordignon, Universidade de Passo Fundo, Brasil
Prof. Dr. Luis Fernando González Beltrán, *Universidad Nacional Autónoma de México, México*
Prof. Dr. Luis Vicente Amador Muñoz, *Universidad Pablo de Olavide, Espanha*
Prof.ª Dr.ª Macarena Esteban Ibáñez, *Universidad Pablo de Olavide, Espanha*
Prof. Dr. Manuel Ramiro Rodríguez, *Universidad Santiago de Compostela, Espanha*
Prof.ª Dr.ª Márcia de Souza Luz Freitas, Universidade Federal de Itajubá, Brasil
Prof. Dr. Marcos Augusto de Lima Nobre, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Brasil
Prof. Dr. Marcos Vinicius Meiado, Universidade Federal de Sergipe, Brasil
Prof.ª Dr.ª Mar Garrido Román, *Universidad de Granada, Espanha*
Prof.ª Dr.ª Margarida Márcia Fernandes Lima, Universidade Federal de Ouro Preto, Brasil
Prof.ª Dr.ª María Alejandra Arecco, *Universidad de Buenos Aires, Argentina*
Prof.ª Dr.ª Maria Aparecida José de Oliveira, Universidade Federal da Bahia, Brasil
Prof.ª Dr.ª Maria Carmen Pastor, *Universitat Jaume I, Espanha*
Prof.ª Dr.ª Maria do Céu Caetano, Universidade Nova de Lisboa, Portugal
Prof.ª Dr.ª Maria do Socorro Saraiva Pinheiro, Universidade Federal do Maranhão, Brasil
Prof.ª Dr.ª Maria Gracinda Carvalho Teixeira, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil



Prof.^a Dr.^a Maria Lúcia Pato, Instituto Politécnico de Viseu, Portugal
Prof.^a Dr.^a Maritza González Moreno, *Universidad Tecnológica de La Habana*, Cuba
Prof.^a Dr.^a Mauriceia Silva de Paula Vieira, Universidade Federal de Lavras, Brasil
Prof.^a Dr.^a Ninfa María Rosas-García, Centro de Biotecnología Genómica-Instituto Politécnico Nacional, México
Prof. Dr. Odara Horta Boscolo, *Universidade Federal Fluminense*, Brasil
Prof. Dr. Osbaldo Turpo-Gebera, *Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa*, Peru
Prof.^a Dr.^a Patrícia Vasconcelos Almeida, Universidade Federal de Lavras, Brasil
Prof.^a Dr.^a Paula Arcoverde Cavalcanti, Universidade do Estado da Bahia, Brasil
Prof. Dr. Rodrigo Marques de Almeida Guerra, Universidade Federal do Pará, Brasil
Prof. Dr. Saulo Cerqueira de Aguiar Soares, Universidade Federal do Piauí, Brasil
Prof. Dr. Sergio Bitencourt Araújo Barros, Universidade Federal do Piauí, Brasil
Prof. Dr. Sérgio Luiz do Amaral Moretti, Universidade Federal de Uberlândia, Brasil
Prof.^a Dr.^a Silvia Inés del Valle Navarro, *Universidad Nacional de Catamarca*, Argentina
Prof.^a Dr.^a Solange Kazumi Sakata, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN)- USP, Brasil
Prof.^a Dr.^a Stanislava Kashtanova, *Saint Petersburg State University*, Russia
Prof.^a Dr.^a Teresa Cardoso, Universidade Aberta de Portugal
Prof.^a Dr.^a Teresa Monteiro Seixas, Universidade do Porto, Portugal
Prof. Dr. Valter Machado da Fonseca, Universidade Federal de Viçosa, Brasil
Prof.^a Dr.^a Vanessa Bordin Viera, Universidade Federal de Campina Grande, Brasil
Prof.^a Dr.^a Vera Lúcia Vasilévski dos Santos Araújo, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Brasil
Prof. Dr. Wilson Noé Garcés Aguilar, *Corporación Universitaria Autónoma del Cauca*, Colômbia
Prof. Dr. Xosé Somoza Medina, *Universidad de León*, Espanha

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)**

E82 Estudos em biociências e biotecnologia [livro eletrônico] : desafios, avanços e possibilidades: vol. III / Organizador Manuel Simões. – Curitiba, PR: Artemis, 2023.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

Edição bilíngue

ISBN 978-65-81701-10-9

DOI 10.37572/EdArt_301123109

1. Ciências biológicas. 2. Biotecnologia. 3. Biomedicina.
I.Simões, Manuel.

CDD 574

Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422



PREFÁCIO

O volume III da edição “Estudos em Biociências e Biotecnologia: Desafios, Avanços e Possibilidades” disponibiliza ao leitor um conteúdo essencialmente focado no estudo de plantas e interfaces para dar resposta a desafios científicos e sociais específicos. O desenvolvimento de conhecimento científico e de tecnologia para a produção sustentável de plantas, bem como o seu processamento e valorização é fundamental para a transição para uma bioeconomia e para a resposta a objetivos de desenvolvimento sustentável, estabelecidos pela Assembleia Geral das Nações Unidas. O livro está organizado em 12 capítulos que focam essencialmente a investigação molecular de plantas, estudos de fisiologia, fitopatologia, cultivo e processamento, e novas aplicações de plantas e das suas moléculas (produtos fitoquímicos).

Manuel Simões

<https://orcid.org/0000-0002-3355-4398>

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1..... 1

DIVERSIDAD MORFOLÓGICA Y GENÉTICA DEL AGUACATE CRIOLLO EN NUEVO LEÓN, MÉXICO

María Genoveva Álvarez Ojeda

Víctor Pecina Quintero

Efraín Acosta Díaz

Isidro Humberto Almeyda León

 https://doi.org/10.37572/EdArt_3011231091

CAPÍTULO 2..... 12

ACTIVIDAD FOTOSINTÉTICA ASOCIADA CON EL INTERCAMBIO GASEOSO DE NUEVE MORFOTIPOS DEL CULTIVO DE *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon - MASHUA

Chacón Campana Máximo Américo

 https://doi.org/10.37572/EdArt_3011231092

CAPÍTULO 3..... 38

LOCALIZACIÓN DE ANTOCIANINAS Y DUREZA DEL ENDOSPERMO EN GERMOPLASMA DE MAÍZ AZUL

Germán Fernando Gutiérrez-Hernández

José Luis Arellano-Vázquez

Luis Fernando Ceja-Torres

Estela Flores-Gómez

Patricia Vázquez-Lozano

 https://doi.org/10.37572/EdArt_3011231093

CAPÍTULO 4..... 44

PARDEAMIENTO Y PORCENTAJE DE BROTACIÓN EN TUBÉRCULOS DE CLONES Y VARIETADES DE PAPA (*Solanum tuberosum* L.) INFECTADOS POR *Candidatus Liberibacter solanacearum*

Margarita Díaz Valasis

Víctor Manuel Parga Torres

María Genoveva Álvarez Ojeda

Ángel Ismael Narváez Rodríguez

Isidro Humberto Almeyda León

 https://doi.org/10.37572/EdArt_3011231094

CAPÍTULO 5..... 54

ATAQUE DE *Frankliniella williamsi* HOOD (*Thysanoptera*: Thripidae) EN CULTIVARES DE YUCA (*Manihot esculenta* Crantz) EN TABASCO, MÉXICO

Dante Sumano López

Mario Rodríguez Cuevas

Víctor Hugo Arias López

 https://doi.org/10.37572/EdArt_3011231095

CAPÍTULO 6.....62

DISEÑO BOX-BEHNKEN USANDO EL CRITERIO DE DESEABILIDAD PARA LA PRODUCCIÓN DE CELULASAS POR *Aspergillus niger* ITV 02 A PARTIR DE BAGAZO DE CAÑA DE AZÚCAR DESLIGNIFICADO

Maria I. Infanzón-Rodríguez

Daniel A. Zavala-Ortiz

Javier Gómez-Rodríguez

Maria Guadalupe Aguilar-Uscanga

 https://doi.org/10.37572/EdArt_3011231096

CAPÍTULO 776

IDENTIFICACIÓN DE *MELOIDOGYNE JAVANICA* NEMATODO AGALLADOR EN BEGONIA CULTIVAR COCKTAIL

Ramón Rodríguez Blanco

José Israel Rodríguez Barrón

Elia Cruz Crespo

Fabiola Cinco García

Miguel Díaz Heredia

Kennedy Antonio Cortez Isiordia

 https://doi.org/10.37572/EdArt_3011231097

CAPÍTULO 8..... 84

XANTONAS COMO AGENTES TERAPÉUTICOS PARA ENFERMEDADES INFLAMATORIAS DE LA PIEL

Mario E. Cancino-Díaz

Gabriel Betanzos-Cabrera

Juan C. Cancino-Díaz

 https://doi.org/10.37572/EdArt_3011231098

CAPÍTULO 9..... 96

RESISTÊNCIA BACTERIANA E COMPOSTOS NATURAIS: APLICAÇÃO DESTE CONCEITO NA APRENDIZAGEM DAS CIÊNCIAS

Maria José Saavedra
Manuel Simões
Conceição Fernandes

 https://doi.org/10.37572/EdArt_3011231099

CAPÍTULO 10..... 106

CAMBIOS EN LA VEGETACIÓN DEL MANGLAR ENTRE 2009-2017 EN EL SISTEMA LAGUNAR DE CHACAHUA-PASTORÍA, OAXACA

Cristian Tovilla Hernández
Rita Lorena Salas Roblero
Erika María Villatoro Arreola

 https://doi.org/10.37572/EdArt_30112310910

CAPÍTULO 11.....133

INFLUENCIA DEL ESTRÉS HÍDRICO EN EL CRECIMIENTO DEL FRUTO Y EN LA FORMACIÓN DE ACEITE EN EL CULTIVO DEL OLIVO

Javier Hidalgo Moya
Juan Carlos Hidalgo Moya
Ana Leyva Bollero
María del Carmen Jiménez Muñoz
Daniel Pérez Mohedano
Victorino Vega Macías

 https://doi.org/10.37572/EdArt_30112310911

CAPÍTULO 12 141

DESHIDRATACIÓN DE CHILE HABANERO PARTE I: EXPERIMENTACIÓN Y MODELADO

Carlos Orozco-Alvarez
Gisela Palma-Orozco
Jonathan Alcántara-Melgar
Sergio García-Salas
Enrique Hernández-Sánchez

 https://doi.org/10.37572/EdArt_30112310912

SOBRE O ORGANIZADOR 150

ÍNDICE REMISSIVO 151

CAPÍTULO 6

DISEÑO BOX-BEHNKEN USANDO EL CRITERIO DE DESEABILIDAD PARA LA PRODUCCIÓN DE CELULASAS POR *Aspergillus niger* ITV 02 A PARTIR DE BAGAZO DE CAÑA DE AZÚCAR DESLIGNIFICADO

Data de submissão: 01/10/2023

Data de aceite: 18/10/2023

Maria Guadalupe Aguilar-Uscanga¹

Tecnológico Nacional de México
Instituto Tecnológico de Veracruz-UNIDA
Av. M. A. de Quevedo Núm. 2779
C.P. 91860
Veracruz, Veracruz, México
<https://orcid.org/0000-0002-3875-7928>

Maria I. Infanzón-Rodríguez

Tecnológico Nacional de México
Instituto Tecnológico de Veracruz
Departamento de Química
Bioquímica-UNIDA
Av. Miguel A. de Quevedo Núm. 2779
C.P. 91860
Veracruz, Veracruz, México
<https://orcid.org/0000-0002-2301-9105>

Daniel A. Zavala-Ortiz

Tecnológico Nacional de México
Instituto Tecnológico de Veracruz
Departamento de Química
Bioquímica-UNIDA
Av. Miguel A. de Quevedo Núm. 2779
C.P. 91860
Veracruz, Veracruz, México
<https://orcid.org/0000-0002-9572-4807>

Javier Gómez-Rodríguez

Tecnológico Nacional de México
Instituto Tecnológico de Veracruz
Departamento de Química
Bioquímica-UNIDA
Av. Miguel A. de Quevedo Núm. 2779
C.P. 91860
Veracruz, Veracruz, México
<https://orcid.org/0000-0002-7411-3003>

RESUMEN: El diseño Box-Behnken es una herramienta efectiva en la optimización de una sola variable de respuesta, sin embargo cuando se tienen dos o más variables de respuesta es necesario recurrir a la optimización multi-respuesta usando la función de deseabilidad con la finalidad de encontrar los parámetros óptimos para satisfacer simultáneamente cada respuesta en el diseño. En este trabajo la producción de celulasas: exoglucanasas (FPasa), endoglucanasas (CMCasa) y B-glucosidasas (BGL) en *Aspergillus niger* ITV 02 utilizando como residuo lignocelulósico el bagazo de caña de azúcar deslignificado (BCd) fue optimizado usando un diseño Box-Behnken, donde las variables independientes fueron concentración de BCd, concentración de Tween 80 y pH. La optimización multi-respuestas fue aplicado para maximizar las tres respuestas (FPasa, CMCasa y BGL) simultáneamente y encontrar un valor óptimo entre la optimización simple y la multi-respuestas aplicando el criterio

¹ Autor de correspondencia Tel. +52 229 9345701 ext. 211. maria.au@veracruz.tecnm.mx

de deseabilidad. Los parámetros óptimos fueron 20.69 g/L de BCd, 0.24 % v/v de Tween 80 y 5.67 de pH, obteniendo una actividad FPasa 0.42 U/mL, CMCasa 0.35 U/mL y BGL 10.23 U/mL. La actividad FPasa, CMCasa y BGL después de la optimización incrementaron 47.62 %, 9.32 % y 47.4 %, respectivamente con respecto a la actividad antes de optimizar. La optimización multi-respuesta usando la función de deseabilidad permitió obtener un extracto enzimático rico en actividad exoglucanasa, endoglucanasa y B-glucosidasa usando BCd y *A. niger* ITV 02, el cual logró hidrolizar celulosa de bagazo de caña de azúcar pretratado eficientemente, logrando obtener 48 g/L de glucosa, y un rendimiento de etanol de 0.46 g/g, una productividad de 1.6 g/Lh y una eficiencia de 90.77 %, valores muy prometedores para la producción de bioetanol de segunda generación (2G).

PALABRAS CLAVE: Celulasas. Optimización. Bioetanol. Box-Behnken.

BOX-BEHNKEN DESIGN AND THE DESIRABILITY FUNCTION APPLICATION IN CELLULASE PRODUCTION BY *ASPERGILLUS NIGER* ITV02 USING A DELIGNIFIED SUGARCANE BAGASSE

ABSTRACT: The Box-Behnken design is an effective tool in the optimization of a single response variable, however when there are two or more response variables it is necessary to resort to multi-response optimization using the desirability function in order to find the optimal parameters to simultaneously satisfy each response in the design. In this work, cellulases production: exoglucanases (FPase), endoglucanases (CMCase) and B-glucosidases (BGL) by *Aspergillus niger* ITV 02 using delignified sugarcane bagasse (BCd) as lignocellulosic residue was optimized using a Box-Behnken design. The independent variables were BCd concentration, Tween 80 concentration and pH. Multi-response optimization was applied to maximize the three responses (FPase, CMCase and BGL) simultaneously and find an optimal value between simple and multi-response optimization by applying the desirability criterion. The optimal parameters obtained were BCd: 20.69 g/L, Tween 80: 0.24% (v/v) and pH:5.67, obtaining an FPase activity of 0.42 U/mL, CMCase 0.35 U/mL and BGL 10.23 U/mL, respectively. FPase, CMCase, and BGL activity after optimization increased 47.62%, 9.32%, and 47.4%, respectively, relative to the activity before optimization. The multi-response optimization using the desirability function allowed us to obtain an enzymatic extract rich in exoglucanase, endoglucanase and B-glucosidase activity using BCd and *A. niger* ITV 02, which managed to hydrolyze cellulose from pretreated sugarcane bagasse efficiently, achieving 48 g/L of glucose, and an ethanol yield of 0.46 g/g, a productivity of 1.6 g/Lh and an efficiency of 90.77%, very promising values for second generation (2G) bioethanol production.

KEYWORDS: Optimización. Celulasas. Bioetanol. Box-Behnken.

1 INTRODUCCIÓN

La creciente preocupación por la seguridad de los suministros de petróleo y el impacto negativo de los combustibles fósiles en el medio ambiente, en particular las emisiones de gases de efecto invernadero, ha impulsado a la sociedad para encontrar alternativas de energía para reemplazar los combustibles fósiles. El bioetanol de segunda generación (2G) obtenido a partir de biomasa lignocelulósica es una de las alternativas más atractivas para desarrollarse como combustible. Entre las diferentes estrategias para la conversión de residuos lignocelulósicos a azúcares fermentables, la etapa de hidrólisis enzimática de la celulosa y hemicelulosa tiene un gran potencial para mejorar la viabilidad económica del proceso de producción de bioetanol.

Uno de los principales retos claves en la producción de bioetanol 2G es la conversión de la celulosa principal componente presente en los lignocelulósicos a azúcares fermentables, el costo de las enzimas celulasas para la hidrólisis de la celulosa se considera que es aproximadamente el 40% del costo total de la producción de bioetanol 2G y la eficiencia de la hidrólisis (Deshavath et al., 2018; Ferreira et al, 2010). La conversión enzimática de celulosa en azúcares reductores es un proceso que requiere la acción de tres tipos de enzimas que actúan de forma sinérgica. Endoglucanasas (E.C. 3.2.1.4), atacan aleatoriamente las cadenas de celulosa exponiendo extremos reductores y no reductores de la celulosa. Las celobiohidrolasas (E.C. 3.2.1.91) actúan en los extremos reductores y no reductores, liberando unidades de celobiosa, las cuales por acción de las enzimas celobiasa/ β -glucosidasa (E.C.3.2.1.21) son convertidos a glucosa (Lynd et al., 2002).

A gran escala la aplicación de celulasas en procesos de hidrólisis de residuos lignocelulósicos demanda microorganismos que favorezcan la actividad y productividad, así como celulasas más resistentes a inhibición por producto (Jiang et al., 2011). Las enzimas para la hidrólisis de los polisacáridos presentes en los residuos lignocelulósicos se han producido principalmente por hongos que pertenecen al género *Trichoderma*. Hongos como *T. reesei* and *T. viride* producen una gran cantidad de enzimas endoglucanasas y celobiohidrolasas, sin embargo, producen poca cantidad de β -glucosidasa, lo cual lleva a una acumulación de celobiosa y por lo tanto a una hidrólisis incompleta cuando los extractos enzimáticos de celulasas producidos por estos hongos son empleados en el proceso de hidrólisis (Jiang et al., 2011, Gottschalk et al., 2010, Adsul et al., 2007). Otro importante hongo productor de celulasas es *Aspergillus*, el cual produce la enzima β -glucosidasa y es usado frecuentemente para complementar cocteles enzimáticos comerciales (Chauve et al., 2010; Lynd et al., 2002). Además, A.

niger es muy apreciado en la industria por su capacidad de fermentación, elevados niveles de proteínas secretadas, y la variedad de enzimas producidas para diversas aplicaciones, incluyendo una combinación de enzimas para hidrolizar los polisacáridos presentes en la pared celular de las plantas (Bhat et al., 2000). Muchas preparaciones comerciales de celulasas son producidas por *T. reesei*: Celluclast 1.5 L (Novozymes A/S), la cual es suplementada con actividad β -glucosidasa de otras fuentes (*A. niger*), Novozym 188 (Novozymes A/S), para mejorar la hidrólisis de celulosa (Sorensen et al., 2011). La producción de estas enzimas está regulada, e inducida en presencia de polímeros (Amore et al., 2013). Cada polisacárido representa una señal específica en el hongo y como consecuencia induce una respuesta específica, cuando el hongo está en contacto con sustratos poliméricos y complejos secreta enzimas hidrolíticas para degradar estos sustratos y usarlos para su crecimiento y mantenimiento (Debeire et al., 2014). Mrudula y Murugammal (2011), reportaron que la producción de celulasas por *A. niger* en fermentación sumergida usando 30 g/L de residuos de coco como sustrato, suplementando el medio con nutrientes y sales, alcanza una actividad endoglucanasa (CMCasa) de 0.8 U/mL y exoglucanasa (FPasa) de 0.51 U/mL, a una temperatura óptima de 30°C y pH 6 a las 96 horas de la fermentación sumergida.

El presente trabajo tiene como objetivo optimizar bajo un criterio de multicomponentes la producción de celulasas por *A. niger* ITV02, cepa autóctona aislada de residuos lignocelulósicos, la cual no ha sido modificada genéticamente, y expresa actividad celulasa al utilizar una fuente de carbono compleja (bagazo de caña de azúcar deslignificado). Los parámetros de optimización a considerar fueron: la adición de fuentes de nitrógeno (urea, sulfato de amonio y extracto de levadura), las condiciones de pH, la concentración de sustrato y Tween 80. El objetivo de esta optimización es lograr un extracto enzimático rico en glucosa que pueda ser usado como sustrato en la producción de bioetanol 2G.

2 METODOLOGÍA

2.1 CONSERVACIÓN Y PRODUCCIÓN DE ENZIMAS CELULASAS POR *A. niger* ITV-22

A. niger ITV02 fue almacenado a 4°C en un medio que contenía 10 g/L extracto de levadura, 20 g/L peptona de caseína, 20 g/L glucosa y 25 g/L agar. Un pre-inoculo (6×10^6 esporas / mL) fue adicionado a un medio de cultivo que contenía bagazo de caña de azúcar deslignificado (BCd), 0.3 g/L KH_2PO_4 , 0.3 g/L CaCl_2 , 0.3 g/L $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1 g/L peptona, 0.9 g/L urea, 1.5 g/L extracto de levadura, 2.4 g/L Sulfato de amonio, 5 mg/L

$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1.6 mg/L $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 1.4 mg/L $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y 2 mg/L CoCl_2 , 0.24 % v/v Tween 80, el medio de cultivo fue ajustado a pH 5.67 y esterilizado por 20 minutos a 121 °C. Las fermentaciones fueron llevadas a cabo a 31°C, 100 rpm por 168 h. Las muestras de las fermentaciones fueron centrifugadas por 20 minutos a 4500 xg, el sobrenadante fue coleccionado y cuantificado la actividad celulasas.

2.2 CARACTERIZACIÓN DE LOS RESIDUOS LIGNOCELULÓSICOS POR LA METODOLOGÍA NREL

El bagazo de caña fue pretratado por una hidrólisis alcalina con H_2O_2 (6% v/v) en una relación líquido: sólido de 12:1 w/v, pH 11.5 con 10 M NaOH, por 37 h (Infanzón et al., 2023) obteniendo bagazo de caña deslignificado (BSd). La composición del residuo lignocelulósico, celulosa, hemicelulosa y lignina fueron determinadas usando la metodología del National Renewable Energy Laboratory (NREL) (Sluiter et al., 2008).

2.3 ELECTROFORESIS DE LAS ENZIMAS CELULASAS

Para determinar la presencia de enzimas celulasas se realizó la electroforesis en gel de poliacrilamida en presencia de dodecil sulfato sódico (SDS-PAGE), tal como lo describe Laemmli (1970). El gel de separación se realizó al 10% y al 12%, los pesos moleculares que se pueden separar en geles de poliacrilamida a diferentes concentraciones. El gel concentrador se preparó al 4%.

2.4 OPTIMIZACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO PARA LA PRODUCCIÓN DE CELULASAS

Mediante un diseño Box-Behnken se optimizó la producción de celulasas con tres variables y tres niveles, medio (0), alto (+1) y bajo (-1); bagazo de caña deslignificado (10, 20 y 30 g/L), tween 80 (0.1, 0.35 y 0.6) y pH (4, 5 y 6) el cual fue diseñado con 12 combinaciones diferentes y tres puntos centrales, para tres respuestas actividad FPase, BGL y CMCCase. Los experimentos fueron realizados en triplicados. Posteriormente mediante la función de deseabilidad se optimizó simultáneamente la actividad FPase, CMCCase y BGL, con la finalidad de encontrar el conjunto de condiciones que son óptimas para todas las respuestas.

2.5 DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD ENZIMÁTICA β - GLUCOSIDASA, ENDOGLUCANASA Y EXOGLUCANASA

La actividad β -glucosidasa es medida usando como sustrato p-Nitrofenil- β -glucopiranosido (β -pNPG) (10 mM pNPG) en amortiguador de acetato de sodio 0.05 M pH 5), a 50°C, durante 30 minutos. La reacción consiste en poner el sustrato β -pNPG en amortiguador de acetato de sodio (pH 5) con la enzima, incubar a la temperatura de 50°C por 30 minutos. Después del periodo de incubación, la reacción es detenida al agregar 0.2 M de Na_2CO_3 en una relación 1:2 Mezcla de la reacción y Na_2CO_3 . La cantidad de para-nitrofenol (pNP) producido es medido a 400 nm (Singhania et al., 2011). De acuerdo con la unión internacional de bioquímica, una unidad de enzima (U) es definida como la cantidad de enzima que se requiere para producir un μmol de pNP por minuto bajo las condiciones evaluadas en el ensayo. Las unidades de actividad β -glucosidasa son calculadas con la ecuación (1):

$$(U/mL) = \left(\frac{Abs\ final - c}{m} \right) \left(\frac{df}{V} \right) \left(\frac{1}{t} \right) \left(\frac{1000\ \mu g}{1\ mg} \right) \left(\frac{1\ \mu mol}{139.1\ \mu g} \right) \quad (\text{Eq.1})$$

Dónde:

m = pendiente de la curva estándar

abs = absorbancia

c = intercepto

df = factor de dilución

V = volumen de la muestra en (mL)

t = tiempo de reacción (minutos)

La actividad endoglucanasa fue cuantificada por el método descrito por Mandels et al. (1969). La mezcla de reacción consiste en 0.5 mL de 1% CMC en un amortiguador de acetato de sodio (pH 5) y 0.5 mL del extracto enzimático, que se incubaba a una temperatura de 50°C por 30 minutos. Por el método de Miller et al. (1959) se cuantificaron los azúcares reductores usando ácido 3,5 dinitrosalicílico (DNS) midiendo absorbancia a 540 nm. Una unidad de actividad endoglucanasa se define como la cantidad de enzima capaz de liberar 1 μmol de glucosa por minuto a pH (5.5 para *A. niger* ITVO2) y temperatura (50°C) establecidas en el ensayo. Las unidades de actividad endoglucanasa fueron calculados con la ecuación (2):

$$U/mL = \left(\frac{Abs\ final - c}{m} \right) \left(\frac{df}{V} \right) \left(\frac{1}{t} \right) \left(\frac{1000\ \mu g}{1\ mg} \right) \quad (\text{Eq. 2})$$

Dónde:

m = pendiente de la curva estándar

abs = absorbancia

c = intercepto

df = factor de dilución

V = volumen de la muestra (mL)

t = tiempo de reacción (minutos)

Actividad en papel filtro (FPasa) fue cuantificado de acuerdo a Ghose (Ghose, T.K. 1987). Los azúcares reductores fueron cuantificados por el método DNS (Miller, G.L. 1959). Una unidad de FPasa fue definido como la cantidad de enzima requerida para liberar 1 μmol glucosa por min bajo las condiciones evaluadas (Prajapati et al., 2020). Las unidades de papel filtro fueron calculados con la ecuación (3):

$$U/mL = \left(\frac{Abs\ final - c}{m} \right) \left(\frac{df}{V} \right) \left(\frac{1}{t} \right) \left(\frac{1000\ \mu g}{1\ mg} \right) \left(\frac{1\ \mu mol}{180.16\ \mu g} \right) \quad (\text{Eq.3})$$

Donde:

m = pendiente de la curva estándar;

abs = absorbancia;

c = intercepto

df = factor de dilución;

V = volumen (mL);

t = tiempo de reacción (minutos)

2.6 FERMENTACIÓN DEL HIDROLIZADO ENZIMÁTICO EN LA PRODUCCIÓN DE BIOETANOL 2G

La levadura *S. cerevisiae* ITV 01 fue usada para la fermentación del hidrolizado enzimático. La levadura fue activada en un medio de cultivo que contenía 30 g/L glucosa, 1 g/L de extracto de levadura, 2 g/L $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 5 g/L of KH_2PO_4 y 0.4 g/L $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Un tamaño de inóculo de 3×10^6 células/mL fue inoculado con un medio que contenía 50% de medio sintético y 50% de medio hidrolizado enzimático, incubado por 12 h, 30°C a 250 rpm, como una etapa de adaptación, posteriormente, este fue vertido como inóculo con un tamaño de inóculo de 6×10^6 células/mL de *S. cerevisiae* ITV 01 en un medio de cultivo que contenía el 100% de hidrolizado enzimático a una concentración de glucosa de 48 g/L para la etapa de producción de etanol. Todas las fermentaciones se llevaron a cabo por duplicado a 30°C y 150 rpm, durante 24 horas. Los parámetros obtenidos fueron: productividad (Q_p), rendimiento de etanol ($Y_{p/s}$) y la eficiencia (% ϵ) calculados a partir de las siguientes ecuaciones:

$$(Q_p) = [P]_{\max} / t_{\text{ferm}} \quad (\text{Eq.4})$$

$$(Y_{p/s}) = [P_f - P_o] / [S_o - S_f] \quad (\text{Eq.5})$$

$$(\% \epsilon) = Y_{p/s\ \text{obt}} / Y_{p/s\ \text{teor}} \quad (\text{Eq.6})$$

Donde;

$[P]_{\max}$ = la concentración máxima de etanol obtenida (g/L)

t_{ferm} = El tiempo donde se obtuvo la máxima concentración de etanol (h)

P_f = Concentración final de etanol (g/L)

P_o = Concentración inicial de etanol (g/L)

S_f = Concentración final de sustrato (g/L)

S_o = Concentración inicial de sustrato (g/L)

$Y_{p/s \text{ obt}}$ = Rendimiento obtenido en el proceso (g/g)

$Y_{p/s \text{ teor}}$ = Rendimiento teórico de la producción etanol = 0.51 (g/g)

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 CARACTERIZACIÓN DEL BAGAZO DE CAÑA

El bagazo de caña deslignificado fue usado como fuente de carbono en la producción de celulasas por *A. niger* ITV 02 y caracterizado por NREL, cuya composición fue celulosa, hemicelulosa y lignina (Tabla 1).

Tabla 1. Composición de los residuos lignocelulósicos.

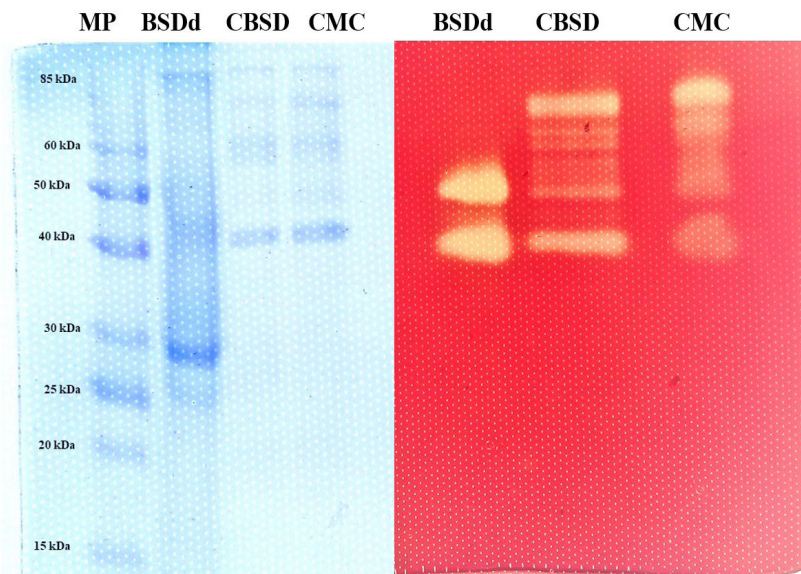
Residuos lignocelulósicos	Celulosa (%)	Hemicelulosa (%)	Lignina (%)
Bagazo de caña crudo	33.4	24.2	27.9
Bagazo de caña con tratamiento alcalino	54.0	27.9	18.2

Como podemos observar después del pretratamiento alcalino la cantidad de lignina disminuye, lo cual es un factor importante para facilitar la acción de las enzimas a la matriz celulosa-hemicelulosa-lignina. Por otro lado, la concentración de celulosa y hemicelulosa aumenta, lo que conlleva a una mejor composición de la matriz rica en estos componentes, los cuales son la clave para la inducción de las celulasas.

3.2 IDENTIFICACIÓN POR SDS-PAGE DE CELULASAS EN LOS EXTRACTOS OBTENIDOS POR *A. niger* ITV 02 EN DIFERENTES FUENTES DE CARBONO

En la Figura 1 se muestra el zimograma de los extractos crudos obtenidos de la fermentación sumergida de *A. niger* ITV 02 usando distintas fuentes de carbono: bagazo de sorgo dulce deslignificado (BSDd), celulosa de bagazo de sorgo dulce (CBSD) y carboximetilcelulosa (CMC).

Figura 1. Gel SDS-PAGE (10%) y zimograma con CMC (0.2 % p/v) expresadas por *A. niger* ITV 02 durante la fermentación sumergida usando BSDd, CBSD y CMC.



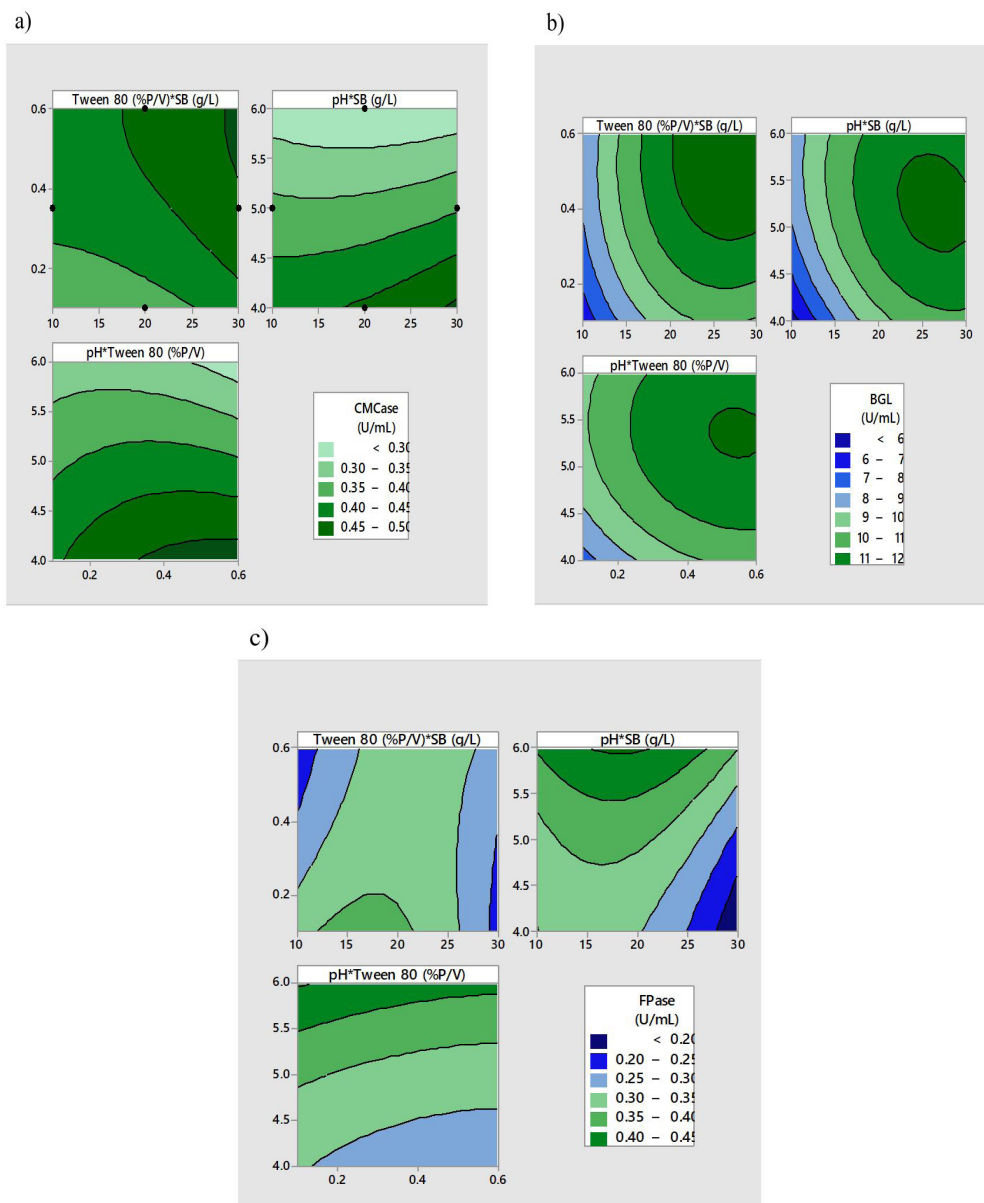
Se pueden observar que en los tres sustratos se expresan proteínas con actividad celulasas, sin embargo, las bandas observadas en cada caso son distintas. En el caso del BSDd se observa dos bandas de 50 kDa y 40 kDa más pronunciadas, en comparación con la CBSD y CMC, estas dos bandas muestran un perfil similar. Sin embargo, el sustrato que mostró una mayor actividad endoglucanasa fue el BSDd, seguido de CBSD y CMC. El peso molecular de las enzimas celulasas varía dependiendo del microorganismo productor. Tao et al. (2010) reportaron una endoglucanasa con peso molecular de 31 kDa producida por *A. glaucus* XC9, usando como fuente de carbono bagazo de caña, 30°C, 180 rpm. Por otro lado, Naika et al. (2007) aisló una endoglucanasa de peso molecular de 45 kDa de *A. aculeatus*. Con respecto a las otras bandas observadas en el gel de peso molecular de 55-85, se pueden tratar de enzimas β -glucosidasa y algunas endoglucanasas, que mostraron actividad en el zimograma de CMC con pesos moleculares mayores a 50 kDa.

3.3 OPTIMIZACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE CELULASAS EN *A. niger* ITV 02

La composición del medio de cultivo es uno de los parámetros más importantes que tiene efecto en el crecimiento y producción de enzimas en microorganismos; el efecto combinado de la composición y concentración de sustrato, la fuente de nitrógeno, concentración de Tween 80 y el pH sobre la producción de celulasas por *Aspergillus niger* ITV 02 ha sido estudiado. En la Figura 2 se muestra la superficie de respuesta obtenida

para la actividad FPasa, CMCasa y BGL, en función de la concentración de sustrato (10 a 30 g/L), Tween 80 (0.1 a 0.6 %p/v) y pH (4 a 6). Podemos observar que concentraciones intermedias (20 g/L) de BCD y bajas concentraciones de Tween 80 (0.1% v/v) favorecen la actividad FPasa. Mientras que la actividad BGL y CMCasa incrementa al aumentar la concentración de BCD (30 g/L) y del tween 80 (0.6% p/v).

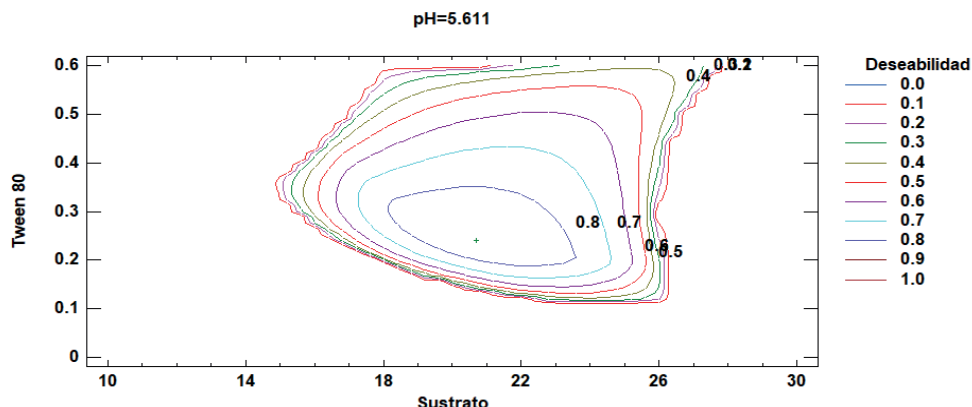
Figura 2. Efecto de la concentración de bagazo de caña, tween 80 y pH sobre la producción de endoglucanasa (a), β -Glucosidasa (b) y FPasa (c).



Estos resultados muestran que al incrementar la concentración de sustrato y la adición de tween 80 favorece la actividad celulasas. Li et al., (2019) evaluaron el efecto de la concentración de sustrato (Kraft hardwood pulp) en la producción de celulasas por *T. reesei* rut C-30 reportando que 40 g/L favoreció la actividad celulasas, sin embargo al incrementar la concentración de kraft hardwood pulp la actividad celulasa disminuyo debido a la limitación de la transferencia de masa a una mayor carga de sustrato.

Con la finalidad de favorecer la actividad celulasas sin que ninguna de estas se vea afectada se usó la herramienta estadística de la función de deseabilidad (d= 0.91) para optimizar la actividad FPasa, CMCasa y BGL (Figura 3 y Tabla 2). se muestran las condiciones óptimas de concentración de bagazo de caña deslignificado, tween 80 y el pH para la producción de celulasas.

Figura 3. Condiciones óptimas de concentración de bagazo de caña deslignificado, Tween 80 y el pH sobre la producción de celulasas, usando la función de deseabilidad.



La optimización mediante la función de deseabilidad permitió incrementar la actividad FPasa y BGL dos veces más con respecto al medio sin optimizar (Tabla 2).

Tabla 2. Optimización de producción de celulasas usando un diseño Box-Behnken y la función de deseabilidad por *A. niger* ITV O2.

Actividad	Condiciones optimas			Actividad (U/mL)		
	SB (g/L)	Tween 80 (%p/v)	pH	FPase	CMCase	BGL
No optimizada	10	0	5.3	0.2	0.33	4.85
FPase	18.31	0.11	6.0	0.41	0.302	8.55
CMCase	29.99	0.58	4.0	0.18	0.42	10.3
BGL	27.78	0.58	5.2	0.35	0.354	11.81
Con Desirabilidad	20.69	0.24	5.7	0.42	0.354	10.23

En la Tabla 3 se puede observar como la fuente de carbono, el microorganismos y condiciones de fermentación influyen en la actividad celulasas. Infanzon et al. (2020) reportaron una actividad BGL (0.41 U/mL) menor a la reportada en este trabajo, usando una concentración de 10 g/L de BSDd, cuando optimizaron las fuentes de nitrógeno (urea, sulfato de amonio y el extracto de levadura). Estos autores observaron que al incrementar la concentración del extracto de levadura, la actividad disminuyo, sin embargo favoreció el crecimiento de *A. niger* ITV 02. Por otro lado Vázquez-Montoya et al. (2020) usando *Penicillium funiculosum* usando como sustrato celulosa comercial (10 g/L) reportaron una actividad BGL de 0.401 U/mL, la concentración y la fuente de carbono tienen un efecto significativo en la expresión y producción de enzimas celulasas.

Tabla 3. Efecto de las condiciones de fermentación sumergida en la producción de enzimas celulasas.

Microorganismo	Sustrato	Condiciones de Fermentación				Actividad Enzimática (U/mL)			Referencia
		Tiempo (h)	SB (g/L)	Tween 80 (%p/v)	pH	FPase	BGL	CMCase	
<i>A. niger</i> ITV 02	BCSd	120	20.7	0.24	5.7	0.417	10.23	0.354	Este trabajo
<i>T. reesei</i> QM9414	Pea hulls	91	-	-	5.0	0.372	NR	NR	Sirohi et al. (2019)
<i>A. niger</i> ITV 02	BSDd	50	10.0	-	5.5	NR	NR	0.072	Infanzon-Rodriguez et al. (2020)
<i>P. funiculosum</i>	Avicel	168	10.0	-	4.0	0.206	0.401	0.606	Vazquez-Montoya et al. (2020),
<i>T. harzianum</i> (IOC-4038)	BC cellulignin	96	7.5			0.092	0.701	0.551	De castro et al., (2010)

3.4 PRODUCCIÓN DE BIOETANOL 2G A PARTIR DE UN HIDROLIZADO ENZIMÁTICO DE *A. niger* ITV 02

El extracto enzimático obtenido fue usado para hidrolizar el bagazo de caña de azúcar previamente tratado con ácido sulfúrico y peróxido de hidrogeno. La concentración inicial de glucosa en el hidrolizado enzimático fue de 48 g/L, el cual fue fermentado por *S. cerevisiae* ITV01, alcanzando una concentración de 22 g/L de etanol a las 14 h, un rendimiento ($Y_{p/s}$) de 0.46 g/g, una productividad de 1.6 g/Lh y una eficiencia de 90.77%. Los parámetros obtenidos demuestran que la producción de bioetanol 2G usando un hidrolizo enzimático de bagazo de caña a partir de *A. niger* ITV 02 es un proceso viable.

4 CONCLUSIONES

A niger ITV 02 es un hongo potencial para la producción de enzimas celulasas, principalmente BGL. El extracto enzimático tiene la capacidad de hidrolizar los residuos lignocelulósicos, para su aplicación en la producción de bioetanol 2G. Con la función de deseabilidad se optimizó la concentración de bagazo de caña, Tween 80 y pH con la finalidad de favorecer la actividad exoglucanasa, endoglucanasa y β -glucosidasa que actúan sinérgicamente en la hidrólisis enzimática de los residuos lignocelulósicos.

REFERENCIAS

1. Adsul, M. G., Bastawde, K. B., Varma, A. J., & Gokhale, D. V. (2007). Strain improvement of *Penicillium janthinellum* NCIM 1171 for increased cellulase production. *Bioresource Technology*, 98(7), 1467-1473.
2. Amore, A., Giacobbe, S., & Faraco, V. (2013). Regulation of cellulase and hemicellulase gene expression in fungi. *Current genomics*, 14(4), 230-249.
3. Bhat, M. K. (2000). Cellulases and related enzymes in biotechnology. *Biotechnology advances*, 18(5), 355-383.
4. Chauve, M., Mathis, H., Huc, D., Casanave, D., Monot, F., & Ferreira, N. L. (2010). Comparative kinetic analysis of two fungal β -glucosidases. *Biotechnology for Biofuels*, 3(1), 3.
5. de Castro, A. M., Pedro, K. C. N. R., da Cruz, J. C., Ferreira, M. C., Leite, S. G. F., Pereira, N. (2010). *Trichoderma harzianum* IOC-4038: a promising strain for the production of a cellulolytic complex with significant β -glucosidase activity from sugarcane bagasse cellulignin. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 162, 2111-2122.
6. Debeire, P., Delalande, F., Habrylo, O., Jeltsch, J. M., Van Dorselaer, A., Phalip, V. (2014). Enzymatic cocktails produced by *Fusarium graminearum* under submerged fermentation using different lignocellulosic biomasses. *FEMS Microbiology Letters*, 355(2), 116-123.
7. Deshavath, N. N., Sahoo, S. K., Panda, M. M., Mahanta, S., Goutham, D. S. N., Goud, V. V., ... & Jetty, A. (2018). The cost-effective stirred tank reactor for cellulase production from alkaline-pretreated agriculture waste biomass. In *Utilization and Management of Bioresources* (pp. 25-35). Springer, Singapore.
8. Ferreira, V., Faber, M. D. O., Mesquita, S. D. S., & Pereira Jr, N. (2010). Simultaneous saccharification and fermentation process of different cellulosic substrates using a recombinant *Saccharomyces cerevisiae* harbouring the β -glucosidase gene. *Electronic Journal of Biotechnology*, 13(2), 5-6.
9. Ghose, T.K., 1987. Measurement of cellulose activities. *Pure Appl. Chem.* 59(2), 257-268.
10. Gottschalk, L. M. F., Oliveira, R. A., & da Silva Bon, E. P. (2010). Cellulases, xylanases, β -glucosidase and ferulic acid esterase produced by *Trichoderma* and *Aspergillus* act synergistically in the hydrolysis of sugarcane bagasse. *Biochemical Engineering Journal*, 51(1-2), 72-78.
11. Infanzón-Rodríguez MI, del Moral S, Castro-Martínez C, Cano-Sarmiento C, Gómez-Rodríguez J, Aguilar-Uscanga MG (2023) Multi-Response Optimization Using the Desirability Function of Exoglucanases, Endoglucanases and β -Glucosidases Production by *Aspergillus niger* ITV-02 from Delignified Sugarcane Bagasse. *Sugar Tech* 25 (1): 86-98. <https://doi.org/10.1007/s12355-022-01191->

12. Infanzón-Rodríguez, M. I., Ragazzo-Sánchez, J. A., Del Moral, S., Calderón-Santoyo, M., Gutiérrez-Rivera, B., & Aguilar-Uscanga, M. G. (2020). Optimization of cellulase production by *Aspergillus niger* ITV 02 from sweet Sorghum bagasse in submerged culture using a Box–Behnken design. *Sugar Tech*, 22(2), 266-273.
13. Jiang, X., Geng, A., He, N., Li, Q. (2011). New isolate of *Trichoderma viride* strain for enhanced cellulolytic enzyme complex production. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 111(2), 121-127.
14. Li, J., Shi, S., Kang, L., Wang, W., Guan, W. (2019). Cellulase production from kraft hardwood pulp by *Trichoderma reesei* rut C-30. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 13(5), 1160-1168.
15. Lynd, L. R., Weimer, P. J., Van Zyl, W. H. Pretorius, I. S. (2002). Microbial cellulose utilization: Fundamentals and Biotechnology Microbiology. *Molecular Biology Review*, 66(3), 506-577.
16. Mandels, M. y Weber, J. 1969. The Production of cellulases. *Adv. Chem. Series* 95. 391-414.
17. Miller GL. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for the determination of reducing sugars. *Journal of Analytical Chemistry* 31: 426-428.
18. Mrudula S., Murugammal. Production of cellulase by *Aspergillus niger* under submerged and solidstate fermentation using coir waste as a substrate. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2011. 42: 1119-1127.
19. Naika, G.S., Kaul, P., Prakash, V. 2007. Purification and characterization of a new endoglucanase from *Aspergillus aculeatus*. *Journal of Agricultural and food Chemistry*. 55, 7566-7572.
20. Prajapati BP, Jana UK, Suryawanshi RK, Kango N (2020) Sugarcane bagasse saccharification using *Aspergillus tubingensis* enzymatic cocktail for 2G bio-ethanol production. *Renewable Energy* 152:653–663. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2020.01.063>
21. Singhania RR, Sukumaran RK, Rajasree KP, et al (2011) Properties of a major β -glucosidase-BGL1 from *Aspergillus niger* NII-08121 expressed differentially in response to carbon sources. *Process Biochemistry* 46:1521–1524. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2011.04.006>
22. Sirohi, R., Singh, A., Tarafdar, A., Shahi, N. C., Verma, A. K., Kushwaha, A. (2019). Cellulase production from pre-treated pea hulls using *Trichoderma reesei* under submerged fermentation. *Waste and Biomass Valorization*, 10, 2651-2659.
23. Sluiter A, Hames B, Ruiz R, Scarlata C, Sluiter J, Templeton D, Crocker DLAP (2008) Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass. Laboratory analytical procedure. <http://www.nrel.gov/biomass/pdfs/42618.pdf>
24. Sørensen, A., Teller, P. J., Lübeck, P. S., Ahring, B. K. (2011). Onsite enzyme production during bioethanol production from biomass: screening for suitable fungal strains. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 164(7), 1058-1070.
25. Tao, Y. M., Zhu, X. Z., Huang, J. Z., Ma, S. J., Wu, X. B., Long, M. N., Chen, Q. X. 2010. Purification and properties of endoglucanase from a sugar cane bagasse hydrolyzing strain, *Aspergillus glaucus* XC9. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(10), 6126-6130.
26. Tolan J.S., Foody B. Cellulase from submerged fermentation. *Advances in Biochemical Engineering / Biotechnology*. 1999. 65: 42-66.
27. Vázquez-Montoya, E. L., Castro-Ochoa, L. D., Maldonado-Mendoza, I. E., Luna-Suárez, S., Castro-Martínez, C. (2020). Moringa straw as cellulase production inducer and cellulolytic fungi source. *Revista Argentina de microbiología*, 52(1), 4-12.

SOBRE O ORGANIZADOR

Manuel Simões é licenciado em Engenharia Biológica e doutorado em Engenharia Química e Biológica. Atualmente é Professor Associado com Agregação e Pró-Diretor da Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto (FEUP), e investigador sénior do Laboratório de Engenharia de Processos, Ambiente, Biotecnologia e Energia (LEPABE) do Departamento de Engenharia Química da FEUP. Nos últimos anos esteve envolvido em 10 projetos nacionais (5 como investigador principal) e 6 projetos europeus. Foi membro do comité de gestão da ação COST BACFOODNET (Rede Europeia para Mitigação da Colonização e Persistência Bacteriana em Alimentos e Ambientes de Processamento de Alimentos) e esteve envolvido em outras 2 ações: iPROMEDAI e MUTALIG. Manuel Simões tem mais de 190 artigos publicados em revistas indexadas no Journal of Citation Reports, 4 livros (1 como autor e 3 como editor) e mais de 40 capítulos em livros. Ele é Editor Associado para o jornal Biofouling - The Journal of Bioadhesion and Biofilm Research (o periódico mais antigo sobre pesquisa em biofilme), Editor Associado para o jornal Frontiers in Microbiology e Section Editor-in-Chief para o jornal Antibiotics. Seus principais interesses de pesquisa estão focados nos mecanismos de formação de biofilme e seu controlo com agentes antimicrobianos, particularmente usando novas moléculas antimicrobianas, e no uso de microalgas para tratamento de efluentes. É um dos investigadores mais citados do mundo (top 1%), tendo sido distinguido nos últimos dois anos no índice Essential Science Indicators, um dos mais prestigiados indicadores da qualidade de investigação.

Identificação SCOPUS: 55608338000; Nº orcid: 0000-0002-3355-4398

ÍNDICE REMISSIVO

A

Aceite 1, 12, 38, 40, 44, 54, 62, 76, 80, 84, 96, 106, 133, 134, 135, 138, 139, 140, 141
Aceituna 134, 136, 138, 139, 140
Acné 84, 85, 88, 89, 90, 92, 93, 94, 95
Aguacate criollo 1, 2, 3, 4, 9, 10
Aleurona 38, 39, 40, 41, 42, 43
Anatomía *Tropaeolum tuberosum* 12
Antibióticos 88, 96, 97, 98, 99, 101, 102, 103, 104, 105
Aplicabilidade 96, 103, 105

B

Bactérias 78, 84, 88, 89, 92, 96, 97, 98, 99, 101, 102, 105
Begonia 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82
Bioetanol 63, 64, 65, 68, 73, 74
Box-Behnken 62, 63, 66, 72, 75
Brotación 44, 45, 47, 48, 49, 50, 52

C

Caracterización morfológica y genética 1, 2
Celulasas 62, 63, 64, 65, 66, 69, 70, 72, 73, 74
Chile habanero 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149
Compostos-bioativos 96
Conservación 65, 107, 131, 132, 145
Cultivares 9, 10, 11, 54, 78

D

Daños 54, 56, 78
Deficitario 134, 135, 137, 138, 140
Dermatitis atópica 84, 85, 86, 87, 88, 93
Diferencias finitas 142, 145

E

Ecofisiología 12, 35, 36
Educação 96

Endospermo 38, 39, 40, 41, 42, 43

I

Inflamación 84, 85, 86, 87, 88, 91, 92, 93

Invernadero 64, 76, 79, 82, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149

M

Manglares 106, 107, 110, 118, 119, 122, 123, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132

Modelado 141, 142, 144, 145, 147, 148, 149

Monitoreo 106, 107, 108, 109, 112, 116, 120, 122, 126, 131, 132

Mortalidad 107, 109, 113, 114, 116, 118, 119, 122, 125, 126, 129

N

Nematodo del nudo de la raíz 77

O

Olivar 133, 134, 135, 139, 140

Optimización 62, 63, 65, 66, 70, 72

P

Papa 13, 32, 33, 35, 45, 46, 47, 49, 50, 51, 52, 53

Pardeamiento 44, 45, 47, 48, 49, 51, 52

Patrones perineales 76, 77, 80, 81

Pericarpio 38, 39, 40, 41, 42, 142

Piel 84, 85, 86, 87, 88, 90, 92, 93, 144, 145, 146, 147, 148

Psoriasis 84, 85, 90, 91, 92, 93

Punta morada 44, 45, 46, 52, 53

R

Regeneración 107, 114, 116, 119, 120, 122, 126, 129

Resistência 44, 57, 77, 89, 92, 96, 97, 98, 99, 103, 147, 148

Riego 3, 46, 108, 127, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140

S

Secado 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149

T

Trips 54, 56, 57, 58, 59, 60, 61

Tropaeolum tuberosum 12, 13, 14, 15, 17, 18, 19, 20, 32, 33, 34, 36, 37

X

Xantonas 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93

Z

Zea mays 39