Cinética de la fermentación en estado sólido de cascarilla de arroz y bagazo de caña con *Auricularia auricula*

Ernesto Alonso Rosero-Delgado^{1,2}, Julio César Dustet-Mendoza²

- 1. Universidad Técnica de Manabí, Av. Urbina y Che Guevara, Portoviejo, Manabí, Ecuador. erosero@utm.edu.ec
- Universidad Tecnológica de La Habana José Antonio Echeverría. Avenida 114 # 11901 entre Ciclovía y Rotonda, Marianao, La Habana, Cuba. jcdm@química.cujae.edu.cu

Resumen

En el trabajo se informa por primera vez la cinética del proceso de fermentación en estado sólido de los sustratos bagazo de caña de azúcar y cascarilla de arroz con Auricularia auricula. Se midió experimentalmente la variación de la proteína, del peso de sólido seco, de la cantidad de dióxido de carbono producido, así como de la fibra cruda total y de sus componentes: celulosa, hemicelulosa y lignina para los 96 días de fermentación. Se obtuvieron valores de eficiencia biológica de 26,4 % en cascarilla de arroz y 36,3 % en bagazo de caña, valores que son comparables con los de otras especies en esos mismos sustratos. Se calculó la curva de crecimiento del hongo a partir de la cantidad de dióxido de carbono producida y se ajustó el modelo de Gompertz modificado para estimar los parámetros cinéticos, obteniéndose velocidades específicas máximas de crecimiento µmax = 0,107 días⁻¹ en cascarilla de arroz y μ max = 0,079 días⁻¹ en bagazo de caña. Estos valores son mayores que los informados para otros hongos de pudrición blanca. Se calcularon las velocidades específicas de consumo de la celulosa, hemicelulosa y lignina. PALABRAS CLAVE: Auricularia auricula, cinética de fermentación, hongos de pudrición blanca, fermentación en estado sólido.

INTRODUCCIÓN

Desde comienzos del siglo XXI se han estado generalizando las tendencias al uso eficiente y la adición de valor a los residuos o subproductos agroindustriales como la pulpa y cáscara de café, el bagazo de yuca, el bagazo de caña de azúcar, la

Abstract

In this work, solid-state fermentation process kinetics of sugarcane bagasse and rice husk as substrates with Auricularia auricula is for the first time reported. The variation of protein, dry weight and carbon dioxide produced are experimentally measured, as well the total crude fiber and her components: cellulose, hemicellulose and lignin were determined over the 96 days of fermentation time. Biological efficiency values of 26.9 % in rice husk and 36.2 % in sugarcane bagasse are obtained; these values are comparable with these ones for other species in the same substrates. The mushroom growth curve was calculated from the carbon dioxide produced and the modified Gompertz's model was adjusted to obtain the kinetic parameters, a maximum specific growth rates μ max = 0.107 days⁻¹ in rice husk and μ max = 0.079 days⁻¹ in sugarcane bagasse were obtained. These values are greater than those reported for other white rot fungi. Substrate specific uptake rate of cellulose, hemicellulose and lignin were also calculated.

KEYWORDS: *Auricularia auricula*, fermetation kinetics, white root fungi, solid state fermentation.

pulpa de remolacha azucarera, la cascarilla de arroz y el rastrojo de frijol (1, 2). Existen varios informes que describen bioprocesos diseñados a partir de estas materias primas para la obtención de productos químicos de valor añadido como los β -carotenos (3), y la melanina (4) entre otros. *Auricularia auricula* (oreja de Judas), es un hongo comestible y medicinal que ha sido reconocido por sus excelentes propiedades medicinales (5, 6), sus contribuciones medioambientales (7) y también nutricionales (8). Es un hongo de pudrición blanca que tiene la capacidad de producir enzimas lignolíticas que le permiten mineralizar la lignina a dióxido de carbono y agua para acceder a la celulosa y la hemicelulosa contenidas en la fibra del material vegetal (9), así como obtener la energía para su metabolismo y posterior crecimiento.

La fermentación en estado sólido (FES) es una técnica de cultivo con la que se logra mayores rendimientos en muchos bioprocesos con hongos basidiomicetos, incluso para la revalorización de residuos agroindustriales (10), ya que permite obtener alimentos humano y animal en un mismo proceso (11), además de otros productos valiosos como se mencionó anteriormente (3, 4). Los estudios sobre la cinética de un proceso de fermentación permiten determinar parámetros importantes como la velocidad específica de crecimiento μ , los coeficientes de rendimiento y mantenimiento, así como establecer el tiempo del proceso fermentativo, con los cuales se pueden diseñar el biorreactor y la estrategia de operación del mismo. En la literatura existe poca información sobre la cinética de procesos de fermentación en estado sólido desarrollados con basidiomicetos, en la mayoría de los casos lo expuesto trata sobre los indicadores de tiempos de colonización del sustrato, de formación de los primordios y de los cuerpos fructíferos, también sobre la eficiencia biológica. La cinética de transformación de los diferentes componentes de la fibra como la celulosa, la hemicelulosa y la lignina es algo importante de conocer en función del objetivo para el cual se diseña el proceso, sin embargo, sobre la misma existe muy poca información disponible. El objetivo de esta investigación es informar por primera vez los parámetros que caracterizan la cinética del proceso de fermentación en estado sólido de los sustratos cascarilla de arroz y bagazo de caña de azúcar con una cepa de la especie Auricularia auricula aislada en la Sierra norte del Ecuador. Se determinaron experimentalmente las curvas de consumo de los componentes celulosa, hemicelulosa y lignina y la de formación de dióxido de carbono. A partir de esta última se predijo la curva de crecimiento del hongo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cepa, medio de cultivo e inóculo

La cepa UTM-aa-b-033112 de *Auricularia auricula* utilizada pertenece a la colección del laboratorio de Microbiología de la Universidad Técnica de Manabí (UTM). El medio usado para el cultivo de rutina fue agar papa dextrosa. Se preparó una solución de esporas en un medio enriquecido con sales (12) con una concentración de 11 10^6 esporas/ml, la cual se usó para inocular los sustratos en la fermentación en estado sólido.

Sustratos, preparación y estandarización

Los sustratos bagazo de caña (BC) y cascarilla de arroz (CA), fueron desinfectados con una solución de hipoclorito de sodio al 10 % (v/v) y se eliminó el exceso de agua en un esterilizador MEMMERT 53 Lt SNE-400 a 82 °C durante 24 horas, antes de la reducción del tamaño de partículas. El medio de cultivo estuvo constituido en cada caso por una mezcla de diferentes tamaños de partículas. Para la cascarilla de arroz la mezcla consistió en el 50 % de partículas de 11,8 mm, 25 % de 0,6 mm y 25 % de 0,15 mm. Para el bagazo de caña la mezcla consistió en 25 % de partículas de 20 mm. 50 % de 0.6 mm v 25 % de 0.15 mm. Los dos sustratos lignocelulósicos fueron suplementados con carbonato de calcio 1 % base seca (p/p), y en el caso de bagazo de caña con sulfato de manganeso (II) con 0,01 ppm base seca (p/p). La humedad inicial en ambos casos fue $65 \% \pm 5$.

Procedimiento experimental

Se establecieron 13 unidades experimentales (UEx) por cada sustrato con 3 réplicas, para un total de 78, las cuales consistían en columnas plásticas tipo Raimbault (13), con un volumen efectivo de 160 ml, conteniendo cada una 60 g \pm 0,05 de sustrato lignocelulósico seco estandarizado (MSS). Las columnas con los sustratos fueron selladas y esterilizadas a 121 °C y 202,6 kPa durante 15 minutos. Cuando el sustrato alcanzó la temperatura ambiente, se realizó la inoculación con la solución de esporas hasta una concentración de 1,8 10⁶ esporas/gramo de sustrato lignocelulósico seco. Las columnas se colocaron en un módulo de fermentación experimental (figura 1) en el cual se mantuvieron constantes la temperatura y la humedad relativa (HR) en 27.4 °C ± 0.5 , y 65,0 % \pm 5, respectivamente. A partir de los 16 días (finalizado el período de colonización de los sustratos), se realizaron intercambios de aire cada 24 horas en intervalos de una hora, dosificando un flujo de aire seco estéril a cada UEx igual a 0,00020 kg a.s./g MSS s, y las columnas se sometieron a períodos de iluminación de 12 horas con una intensidad igual a 500 Lux \pm 50 (14).

La composición y condiciones iniciales del medio de cultivo se informan en las tablas 1 y 2.

Determinación de la cinética del proceso

La transformación del sustrato, la formación



Figura 1. Esquema de la unidad experimental de fermentación.

- 1: Válvula de ingreso de agua, con nebulizador de 30 ml de capacidad.
- 2: Dosificador de aire estéril (nebulizador de 15 W).
- 3: Válvula de ingreso, control del flujo de aire.
- 4: Columna de humidificación.
- 5: Plaqueta de calefacción y sistema de ventilación (60 Hz).
- 6: Lámpara UV.
- 7: Columnas de 160 ml.
- 8: Sistema de cierre para salida de gases.
- 9: Trampa de gases.

Tabla 1. Composición del medio de cultivo para el crecimiento de *Auricularia auricula* UTM-aab-033112 sobre los sustratos lignocelulósicos (BC, CA)

Tamaño de inóculo	1,8 10 ⁶ esporas / g de MSS						
Condiciones iniciales	Sustrato (BC / CA):	99,009%					
	CaCO ₃ :	0,99%					
	MnSO ₄ :	0,001% *					
	pH:	5,0					
	C:N:	35:1 - 40:1*					
	Humedad:	$65~\%\pm5~\%$					
	Intensidad luminosa:	500 Lux					
		DO					

* Condiciones establecidas únicamente para BC

de biomasa, de dióxido de carbono, agua y otros productos extracelulares como las enzimas lignolíticas durante el proceso fermentativo se pueden describir estequiométricamente con la ecuación 1 (15, 16).

Cada columna fue conectada a una trampa con hidróxido de potasio y una concentración 0,5mol/L, para atrapar y determinar por titulación (volumetría) los gramos de CO₂ producidos hasta el tiempo en que fue desconectada. Los gramos de CO₂ producidos en cada columna son referidos a los gramos de sólido seco transformado (Y_{CO2/S}) durante el proceso de fermentación (17, 18). Para determinar la transformación del sólido y de sus tres componentes principales se desconectaron 6 columnas al azar (tres por cada sustrato), en los tiempos 0, 8, 16, 24, 32, 40, 48, 56, 64, 72, 80, 88 y 96 días de fermentación. A los sustratos lignocelulósicos se le determinaron la humedad, el porcentaje de grasas (% G), de cenizas (% Cz), de proteínas (% P), de fibra cruda (%FC), de fibra ácida detergente (%FAD), de lignina detergente ácida (% LDA) y de fibra neutro detergente (% FND). Con esas tres últimas determinaciones se calcularon las fracciones de celulosa (% C = %FDA - %LDA), hemicelulosa (% H = % FDN - % LDA) y (% L) lignina (19), para calcular el consumo específico de estos componentes en función del tiempo $(q_{\rm C}, q_{\rm H} y q_{\rm I}).$

Durante el proceso fueron observados también otros indicadores del crecimiento del hongo tales como los tiempos de colonización total del sustrato por el micelio (tC), de formación de primordios (fP) y de desarrollo de los cuerpos fructíferos (cF). La eficiencia biológica EB (parámetro importante para caracterizar los procesos con hongos basidiomicetos) fue calculada para los 96 días mediante la ecuación 2, determinando las masas de las setas desarrolladas en la fase de fructificación.

$$EB = \frac{g \, cF}{g \, MSS} \, 100 \qquad (Ec. 2)$$

Cálculo de la curva de crecimiento

La curva de producción de CO_2 fue utilizada para el cálculo de la curva de crecimiento. A partir de los gramos de CO_2 producidos y teniendo en cuenta la estequiometría de la reacción se calcularon los gramos formados de biomasa durante el proceso fermentativo, mediante el procedimiento siguiente: se calculó la producción de biomasa X para cada tiempo utilizando la ecuación 3 (20).

$$X_{t = t_{n}} = X_{t_{n-1}} + [Y_{X/CO_{2}} * \Delta CO_{2}]$$
 (Ec. 3)

El coeficiente de rendimiento biomasa-dióxido de carbono $Y_{X/CO2}$ fue calculado mediante la ecuación 4, calculando el valor del rendimiento energético de la biomasa (η) a partir de la estimación del coeficiente $Y_{X/Y}$ sobre la base de la cantidad de masa seca de los cuerpos fructíferos y

$$C_w H_x O_y N_z + a O_2 + b H_g O_h N_i \longrightarrow c C H_\alpha O_\beta N_\delta + d C O_2 + e H_2 O_k + f C_j H_k O_l N_m$$
(Ec.1)

Sustrato + Oxígeno + Nitrógeno

Biomasa + Dióxido de carbono + Agua + Productos

que $\eta \ge 0.7$ (máximo observado experimentalmente). Para el rendimiento energético del producto se asumió el valor cero. La concentración inicial de biomasa $X_{t = t_{n-1}}$ fue la experimental a partir del inóculo utilizado, ΔCO_2 significa la producción de dióxido de carbono en el intervalo de tiempo. Los parámetros termodinámicos asociados a este sistema se detallan en la tabla 3.

$$Y_{x/CO_2} = \frac{\frac{3\eta}{2\sigma_b\gamma_b}}{\frac{1.375(1-\frac{\gamma_s}{\gamma_b}\eta-\epsilon_p\frac{\gamma_s}{\gamma_b})}{\frac{\gamma_s}{\frac{4}{4}}}}$$
(Ec. 4)

Tabla 3. Parámetros termodinámicos calculados para los sistemas de fermentación de cascarilla de arroz y bagazo de caña con *Auricularia auricula* UTM-aa-b-033112

Auricularia auricula	$\delta_{\rm b}$ = 0,46	$Y_{b} = 4,2$				
Cascarilla de arroz	$\delta_{s} = 0,42$	Y _s = 4,01				
Bagazo de caña	$\delta_{s} = 0,42$	Y _s = 4,09				

Donde σ significa la fracción másica de carbono en la molécula y *Y* el grado de reducción de la molécula. Los subíndices *b* y *s* significan biomasa y sustrato respectivamente.

Los valores de las velocidades específicas de consumo de celulosa, hemicelulosa y lignina fueron calculados mediante la ecuación 5, aplicando el método diferencial de análisis de los datos de las cinéticas de crecimiento y de consumo de cada componente.

$$q_{\rm S} = -\frac{1}{\chi} \frac{dS}{dt}$$
 (Ec. 5)

El aumento de la biomasa de *Auricularia auricula* fue considerado por unidad de masa seca de sustrato (g de biomasa/g MSS).

Modelo cinético para describir la curva de crecimiento

Para describir las cinéticas de crecimiento de Auricularia auricula sobre CA y BC, fue ajustado el modelo de Gompertz modificado (a partir de la ecuación básica 6) a los datos experimentales (21 - 23). Este modelo permite la descripción del crecimiento de cepas de hongos de pudrición blanca, cuyos sistemas enzimáticos están involucrados en el rompimiento oxidativo de lignina y un número grande de compuestos aromáticos.

(ecuación 6) Modelo de	(ecuación 7) Modelo de			
Gompertz	Gompertz modificado			
Y=a* exp [- exp (b-c*t)]	$ Y=A^* \exp\left\{-\exp\left[\frac{\mu_m^e}{A}\right](\lambda \cdot t)+1\right\} $			

Donde:

- Y = Producción acumulativa de biomasa (g).
- A = Logaritmo de los recuentos asintóticos cuando el tiempo se incrementa indefinidamente (log biomasa/g MSS).
- µm = Velocidad específica máxima de crecimiento (días⁻¹).
- λ = Duración de la fase de latencia (días).

t = Tiempo de fermentación (días).

Análisis estadístico de los datos

Se usaron como software STATGRAPHICS CENTURION XV, STATISTICA 7.0, ORIGIN PRO 8 y CURVE EXPER 1.3. Con el primero se compararon los resultados obtenidos con ambos sustratos, con el segundo se calcularon los parámetros del modelo de Gompertz modificado, con el tercero se trazaron las curvas de crecimiento de la biomasa en ambos sustratos y con el cuarto se evaluó la derivada de la función del sustrato en el tiempo (ecuación 5).

RESULTADOS

Proceso de crecimiento de Auricularia auricula UTM-aa-b-033112

En la tabla 4 se muestran los indicadores tradicionales informados en la literatura para caracterizar los procesos de fermentación con basidiomicetos, estos son los tiempos de colonización del sustrato, de formación de los primordios y de los cuerpos fructíferos, así como la eficiencia biológica. El número de cosechas de cuerpos fructíferos (cuatro) es igual en ambos sustratos, aunque la formación de primordios y de cuerpos ocurre antes en la cascarilla de arroz. En la tabla 5 se muestran las variaciones de las variables proteína, fibra cruda y peso seco del sólido en función del tiempo para los dos sustratos estudiados. Para la cascarilla de arroz la pérdida de peso fue significativamente mayor durante la etapa de colonización, al contrario de lo sucedido para el bagazo de caña que la mayor pérdida de peso ocurrió durante la etapa de formación de primordios. La variación en el contenido de proteína y la pérdida de peso están relacionados con la disminución en el contenido de materia orgánica, específicamente celulosa, hemicelulosa y lignina (figura 3), esto debido a la transformación en CO₂ y H₂O de los sustratos durante el proceso metabólico de A. auricula.

Tabla 4. Tiempos de colonización, formación de primordios y producción de cuerpos fructíferos, Eficiencia biológica de *Auricularia auricula* UTM-aa-b-033112 sobre los sustratos lignocelulósicos (BC, CA) a los 96 días de fermentación. Temperatura 27,4 °C, humedad inicial 65 %, pH inicial 5 e intensidad luminosa 500 Lux

Sustrato	tC	fP	cF (días)				N° cFF	peso de cFF	EB
	(días)	(días)	1ra	2da	3ra	4ta	(#)	(g)	(%)
Cascarilla de arroz (CA)	16	42	56	64	81	88	4,0	15,71	26,4
Bagazo de caña (BC)	16	48	64	74	86	96	4,0	21,13	36,3

Tabla 5. Variaciones de los porcentajes en base seca de la proteína total, y el peso seco de sólidos, de la masa de fibra total durante el crecimiento de *Auricularia auricula* UTM-aa-b-033112 sobre los sustratos lignocelulósicos. Temperatura 27,4 °C, humedad inicial 65 %, pH inicial 5 e intensidad luminosa 500 Lux

Tiempo de fermentación (dias)	Porce	entaje de eína (%)	Contenido	de fibra (g)	Reducción de peso (%)		
	CA	BC	CA	BC	CA	BC	
0	3,27	4,25	43,29	51,59	0,00	0,00	
8	3,27	4,29	35,82	50,33	0,00	0,38	
16	3,33ª	$4,39^{a}$	31,93ª	43,28ª	$5,62^{a}$	$2,55^{a}$	
24	3,38	4,55	31,10	43,62	13,36	4,53	
32	3,48	4,74	27,43	39,41	14,48	5,69	
40	$3,58^{b}$	4,95	$28,97^{b}$	39,05	$15,12^{b}$	11,95	
48	3,68	$5,26^{\mathrm{b}}$	26,11	37,91 ^b	16,36	$15,03^{b}$	
56	$3,86^{c1}$	$5,\!60$	25,26 ^{c1}	30,64	$21,71^{c1}$	15,49	
64	4,06c2	5,96 ^{c1}	$24,75^{c2}$	27,48 ^{c1}	$28,24^{c2}$	$28,10^{c1}$	
72	4,29	$6,34^{c2}$	24,98	$29,19^{c2}$	31,27	$31,34^{c2}$	
80	$4,54^{c3}$	6,74	24,68 ^{c3}	26,53	$34,78^{c3}$	33,50	
88	4,83 ^{c4}	$7,18^{c3}$	$24,39^{c4}$	26,26 ^{c3}	$34,65^{c4}$	42,36 ^{c3}	
96	5,12	$7,62^{c4}$	23,59	$28,32^{c4}$	36,98	$43,79^{c4}$	

Tiempos de; aColonización, bFormación de primordios, c1, c2 y c3Fructificación (cosecha 1, 2, 3 y 4)



En la figura 2 se observa una diferencia entre la cantidad de CO_2 producido durante el tiempo de fermentación en función del tipo de sustrato transformado. La producción de $CO2_2$ se observa en ambos sustratos a partir de la primera semana de proceso. Durante la fase de colonización de los sustratos hasta los 16 días se produce una reducción importante de la fibra total contenida en los sustratos (cascarilla de arroz: de 43,29 g a 31,93 g y bagazo de caña: de 51,59 g a 43,28 g) como se

Figura 2. Dinámica del consumo de fibra cruda (fC) y acumulación de CO_2 durante la fermentación de bagazo de caña y cascarilla de arroz con *Auricularia auricula* UTM-aa-b-033112. Temperatura 27,4°C, humedad inicial 65 %, pH inicial 5 e intensidad luminosa 500 Lux.



Figura 3. Consumo de los componentes de la fibra de los sustratos durante el crecimiento de *Auricularia auricula* UTM-aa-b-033112 sobre cascarilla de arroz y bagazo de caña. Temperatura 27,4 °C, humedad inicial 65 %, pH inicial 5 e intensidad luminosa 500 Lux.

muestra en la tabla 5, sin embargo, la producción de CO_2 es baja, representando el 8,07 % para CA y 1,42 % para BC de todo el CO_2 producido durante el tiempo total de la fermentación. Durante la fase de fructificación, que inicia a los 56 días en la cascarilla de arroz y a los 64 días en el bagazo de caña como se muestra en la figura 2, la generación de CO_2 , muestra un pico que representa casi el doble del total producido durante las dos primeras fases de crecimiento.

Durante el crecimiento de *A. auricula* en cascarilla de arroz y bagazo de caña, varía el porcentaje de la fibra total siendo igual a 53 % en 32 y 56 días de fermentación, respectivamente (porcentaje calculado a partir de los datos de fibra en la tabla 5). Cada componente de la fibra fue transformado en cantidades diferentes, en la cascarilla de arroz el 75,59 % de la celulosa, el 67,29 % de la hemicelulosa y el 69,55 % de lignina, mientras que en el bagazo de caña el 61,04 % de la celulosa, el 74,47 % de la hemicelulosa y el 69,62% de lignina (figura 3).

En las figuras 4 y 5 se muestran los ajustes del modelo de Gompertz modificado a los datos del crecimiento de *Auricularia auricula* calculados a partir de la curva de producción de CO_2 para





Figura 4. Cinética de crecimiento de *Auricularia auricula* UTM-aa-b-033112 sobre cascarilla de arroz. Temperatura 27,4 °C, humedad inicial 65 %, pH inicial 5 e intensidad luminosa 500 Lux.

Figura 5. Cinética de crecimiento de *Auricularia auricula* UTM-aa-b-033112 sobre bagazo de caña. Temperatura 27,4 °C, humedad inicial 65%, pH inicial 4,5 e intensidad luminosa 500 Lux.

Tabla 6. Parámetros de crecimiento para *Auricularia auricula* sobre cascarilla de arroz y bagazo de caña obtenidos a partir del modelo de Gompertz modificado. Temperatura 27,4 °C, humedad inicial 65 %, pH inicial 5 e intensidad luminosa 500 Lux



Figura 6. Velocidad específica de consumo de los componentes de la fibra durante el crecimiento de *Auricularia auricula* sobre A) cascarilla de arroz y B) bagazo de caña. Temperatura 27,4 °C, humedad inicial 65 %, pH inicial 5 e intensidad luminosa 500 Lux.

ambos sustratos. En ambos casos se obtuvo un buen ajuste entre los datos experimentales y los valores predichos con el modelo. Los parámetros del modelo de Gompertz modificado se informan en la tabla 6. La correlación entre los valores experimentales y los predichos por el modelo es adecuada, con un $R^2 = 0,995$ para el sustrato cascarilla de arroz y un $R^2 = 0,992$ para el sustrato bagazo de caña, lo cual indica que el modelo usado es útil para describir la cinética de crecimiento de *Auricularia auricula* en ambos sustratos.

Las curvas observadas de las velocidades específicas de transformación de los componentes de la fibra, para los dos tipos de sustratos muestran dos fases, una rápida decreciente y una prácticamente constante (figura 6). La velocidad específica de consumo de celulosa en CA presenta una tendencia lineal decreciente hasta los 48 días de fermentación con un valor $q_{s(arroz)} = 0,092$ g celulosa/g de biomasa días, mientras que para el BC esta tendencia se mantiene hasta los 56 días con un valor de velocidad específica de consumo q_{s(caña)}=0,058 g celulosa/g de biomasa días respectivamente. Las velocidades específicas de consumo de hemicelulosa mantienen las mismas tendencias en CA hasta los 16 días y en BC se extiende hasta los 56 días, tiempos en los cuales se registraron velocidades específicas de consumo de hemicelulosa q_{s(arroz)}=0,040 g hemicelulosa/g de biomasa días y q_{s(caña)}=0,038 g hemicelulosa/g de biomasa días, respectivamente. La lignina se consume de manera lineal decreciente hasta las 48 horas en CA y en BC llega hasta los 56 días de fermentación, tiempos en los cuales se registraron velocidades específicas de consumo de lignina q_{s(arroz)}=0,047 g lignina/g de biomasa días y q_{s(caña)}=0,026 g lignina/g de biomasa días, respectivamente. Luego de estos tiempos, las velocidades específicas de consumo de los componentes de la fibra presentan valores inferiores a los anteriores y prácticamente constantes. La velocidad específica de consumo de la celulosa es mayor que las de los otros dos componentes, tanto en la cascarilla de arroz como en el bagazo de caña, lo que sugiere que la celulosa es el componente de la fibra de mayor accesibilidad para la cepa de A. auricula estudiada. Por otra parte las velocidades específicas de consumo de los tres componentes son mayores cuando el sustrato es la cascarilla de arroz.

DISCUSIÓN

La cepa UTM-aa-b-033112 de *Auricularia auricula* muestra buena adaptación a los sustratos lignocelulósicos evaluados y a las condiciones de fermentación establecidas durante los 96 días, a partir de los porcentajes de eficiencia biológica (% EB) obtenidos en cada sustrato. Se informa (24) una eficiencia biológica de 25,3 % en bagazo de caña mezclado con paja de trigo y de 35,4 % en cascarilla de arroz, en el presente estudio se logra una eficiencia biológica mayor en el bagazo de caña (36,3 %) siendo esto favorable porque se usa un solo sustrato, sin embargo, es menor en la cascarilla de arroz (26,4 %). Por otra parte, se logró (25) una eficiencia biológica de 7,76 % en cascarilla de arroz con una cepa de *Pleurotus ostreatus* y se mencionan (26, 27) que el metabolismo de esta especie es muy similar al de Auricularia auricula, razón por la cual los resultados de eficiencia biológica pueden ser comparados entre especies diferentes. Desde el punto de vista productivo cuando los objetivos del proceso son la producción del hongo y/o la disminución de algunos de los componentes de la fibra del sustrato, es conveniente alcanzar altos valores de eficiencia biológica. Otros autores informan eficiencias biológicas significativamente más altas (50,9 % y 59,8 %) para Pleurotus ostreatus las cuales logran mediante una estrategia de desarrollo del inóculo que requiere de la mezcla de varios sustratos (28).

El incremento de proteína en la masa de sólido es característico en este tipo de procesos fermentativos, debido a la transformación de los polímeros en componentes como CO_2 y H_2O , mientras que el nitrógeno se va concentrando y transformando para formar parte de la proteína de la biomasa del hongo que va creciendo, así como lo informan Sales-Campo (29) y Pineda et al. (30). El cambio de la concentración de proteína en el tiempo es usado en ocasiones, para dar seguimiento al crecimiento de hongos. Sin embargo, pueden ser utilizadas otras variables respuestas para la determinación de la cinética de crecimiento de hongos de pudrición blanca como son la producción de CO_2 y el consumo del sustrato (31-34), y en el caso específico de fermentaciones sólidas con residuos lignocelulósicos, el contenido de fibra y sus componentes (celulosa, hemicelulosa y lignina) (35-38). Rouches et al. (36) utilizaron dos cepas del hongo de pudrición blanca Lentinula edodes logrando una transformación de 15,2 % de celulosa, 73,5 % de hemicelulosa y 87,6 % de lignina en 60 días de proceso, por otra parte, Dong *et* al. (37) informan la transformación de 16,3 % de celulosa, 64,4 % de hemicelulosa y 84,9 % de lignina, con una cepa de *Pleurotus ostreatus* en 91 días de proceso, en los dos casos usando bagazo de caña enriquecido como sustrato. Por otra parte Bento *et al.* (38) informan una reducción del 57 % de la hemicelulosa, mientras que la lignina evaluada como fibra ácido detergente, y la celulosa permanecieron sin cambios durante el crecimiento de *P. ostreatus* en bagazo de caña. En la presente investigación se transforma la celulosa del bagazo con un valor significativamente superior (61,04 %) a los alcanzados en los informes antes mencionados, lo cual pudiera estar relacionado con las condiciones de fermentación como la humedad, el tamaño de las partículas de sustrato que favorecen el acceso de las enzimas, así como en particular con la cepa utilizada. Sin embargo, en estos trabajos (36-38) solo se determinan los valores iniciales y finales de los componentes de la fibra sin describirse la cinética de transformación de los mismos como se informa en la presente investigación. Describir la cinética del proceso tiene la ventaja de disponer de la información necesaria para el diseño del proceso productivo, determinándose entre otras variables el tiempo óptimo para detener el proceso.

La relación teórica entre las velocidades específicas de crecimiento μ y de consumo de sustrato $q_s (\mu/q_s)$ significa el coeficiente de rendimiento biomasa-sustrato $Y_{X/S}$, este último aumenta cuando la velocidad específica de consumo de sustrato es menor. En los procesos estudiados esa tendencia se manifiesta en los resultados experimentales, obteniéndose en bagazo de caña una mayor producción de biomasa, siendo las velocidades específicas de consumo de los tres componentes de la fibra menores que las observadas en la cascarilla de arroz. El bagazo de caña es un mejor sustrato para la cepa de *Auricularia auricula* estudiada comparado con la cascarilla de arroz.

El modelo de Gompertz modificado describe satisfactoriamente la cinética de crecimiento de Auricularia auricula UTM-aa-b-033112 sobre cascarilla de arroz y bagazo de caña, sin embargo, la fase de adaptación no es predicha por el modelo. Según los resultados obtenidos mediante el ajuste del modelo a la información experimental con ambos sustratos, se determinó que A. auricula UTM-aa-b-033112 presenta una fase de adaptación (λ) muy similar en ambos casos entre 36,13 y 23,81 días, la presencia de esta fase fue demostrada para un hongo de pudrición blanca denominado Pleurotus eryngii por Andino et al. (39), quienes encontraron una fase de adaptación diferente a lo informado en esta investigación (7 días). Por otra parte, estos dos valores no coinciden con Martínez *et al.* (40) guienes informan un valor de

2,3 días, sin embargo, estos autores (39, 40) coinciden en plantear que la adaptación de varios días es característico del crecimiento fúngico y está asociada con las síntesis de enzimas para la utilización de los nutrientes del medio. La diferencia entre la composición de nutrientes es lo que más se distingue entre las condiciones de fermentación en estas referencias, en particular para la relación C:N utilizada, lo cual puede ser la razón de la diferencia entre los tiempos de adaptación. Con relación al parámetro cinético velocidad específica máxima de crecimiento, Pineda et al (41) informan un valor de µmax= 0,201 días⁻¹ a 20 °C para una cepa de *P. ostreatus* (gliie-010606) creciendo sobre residuos de frijol enriquecidos, valor mayor al obtenido en esta investigación para A. auricula UTM-aa-b-033112, no obstante, es notable que son dos organismos diferentes, y aunque según Luo (14) y Delfin *et al.* (26) tienen metabolismos similares y comparables, los sustratos en ambas investigaciones fueron diferentes.

CONCLUSIONES

Se informan por primera vez los parámetros cinéticos del proceso de fermentación en estado sólido de los sustratos cascarilla de arroz y bagazo de caña con la cepa UTM-aa-b-033112 de Auricularia auricula. Se obtuvieron eficiencias biológicas de 26,4 % en cascarilla de arroz y 36,3 % en bagazo de caña en 96 días de fermentación a una temperatura de 27,4 °C, una humedad inicial de 65 % y un pH inicial igual a 5 e intensidad luminosa de 500 Lux. El modelo de Gompertz modificado predice bien la cinética de crecimiento del hongo observándose velocidades específicas máximas de crecimiento de 0,107 días⁻¹ en cascarilla de arroz y 0,079 días⁻¹ en bagazo de caña, siendo estos últimos valores menores que los informados para otros hongos de pudrición blanca. Los valores de las velocidades específicas de consumo de los componentes de la fibra celulosa. hemicelulosa y lignina demuestran que en ambos sustratos la celulosa es el componente que más rápido se consume. Los indicadores del crecimiento obtenidos, así como los parámetros cinéticos demuestran que la cepa estudiada se desempeña mejor en el sustrato bagazo de caña.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pandey A. *et al.* Biotechnological potential of agro-industrial residues. I: sugarcane bagasse. Bioresource technology v 74 n 1: 69-80, 2000.

- 2. Pandey A.; Soccol, R.; Mitchell, D. New developments in solid-state fermentation: I-bioprocesses and products. Process biochemistry v 35 n 10: 1153-1169, 2000.
- 3. Sulistiany H.; Sudirman L.; Dharmaputra O. S. Production of Fruiting Body and Antioxidant Activity of Wild *Pleurotus*. HAYATI Journal of Biosciences v 23 n 4: 191-195, 2016.
- 4. Sun S. et al. Production of natural edible melanin by *Auricularia auricula* and its physicochemical properties. Food chemistry v 196: 486-492, 2016.
- 5. Hu, Xinyu, *et al.* Hpyerglycemic and anti-diabetic nephritis activities of polysaccharides separated from *Auricularia auricula* in diet-streptozotocin-induced diabetic rats. Experimental and Therapeutic Medicine v 13 n 1: 352-358, 2017.
- 6. Xiong W. *et al.* Design and evaluation of a novel potential carrier for a hydrophilic antitumor drug: *Auricularia auricula* polysaccharide-chitosan nanoparticles as a delivery system for doxorubicin hydrochloride. International Journal of Pharmaceutics v 511 n 1: 267-275, 2016.
- Behrens C. J.; Zelena K.; Berger R. G. Comparative Cold Shock Expression and Characterization of Fungal Dye-Decolorizing Peroxidases. Applied biochemistry and biotechnology v 179 n 8: 1404-1417, 2016.
- 8. Ohiri, Reginald Chibueze; BASSEY, Essien Eka. Evaluation and Characterization of Nutritive Properties of the Jelly Ear Culinary-Medicinal Mushroom *Auricularia auricula-judae* (Agaricomycetes) from Nigeria. International Journal of Medicinal Mushrooms v 19 n 2: 2017.
- 9. Zhang, Yan; YAO, Aiying; SONG, Kuiyan. Torrefaction of cultivation residue of *Auricularia auriculajudae* to obtain biochar with enhanced fuel properties. Bioresource technology v 206: 211-216, 2016.
- 10. Oviedo J. C. *et al.* Evaluación de tres variables de crecimiento del Pleurotus pulmonarius sobre Tusa de Maíz empleando procesamiento digital de imágenes. Información tecnológica v 27 n 5: 27-36, 2016.
- 11. Pineda-Insuasti J. *et al.* Producción de hongo ostra (*Pleurotus* spp) en bagazo de caña. ICIDCA. Sobre los derivados de la Caña de Azúcar v 50 n 1: 50-54, 2016.
- 12. Pérez M. R.; Mata G. Cultivo y selección de cepas de *Pleurotus ostreatus* y *P. pulmonarius* en viruta de pino: obtención de nuevas cepas y evaluación de su producción. Revista mexicana de micología v 20: 53-59, 2005.
- 13. Poltronieri P.; D'urso O. F. Biotransformation of Agricultural Waste and By-products: The Food, Feed, Fibre, Fuel (4F) Economy: Elsevier, 2016.
- 14. Luo, X. C. Biology of artificial log cultivation of Auricularia mushroom. Chang, ST, Buswell JA, Siuwai Chiu (eds) Mushroom Biology and Mushroom Cultivation. Hong Kong: Chinese University Press, 1993.
- 15. Álvarez-Gutiérrez, Peggy Elizabeth, *et al.* Actividades Enzimáticas de Hongos para el Pre-tratamiento de Residuos Lignocelulósicos. Bio Tecnología v 18: 2014.
- 16. Doran P. Second Edition. Bioprocess engineering principles. Academic press, 2013.
- 17. NTE INEN 2642 (Spanish). Método de Ensayo para Determinar la Biodegradación Aeróbica en el Suelo de los Materiales Plásticos o de Materiales Plásticos Residuales después de Compostaje, 2012.
- 18. ASTM D5988-12. Standard Test Method for Determining Aerobic Biodegradation of Plastic Materials in Soil, ASTM International, West Conshohocken, PA, 2012.
- 19. Van Soest, Pj Van; Robertson, J. B.; Lewis, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of dairy science v 74 n 10: 3583-3597, 1991.
- 20. Rodríguez J. A.; Torres A.; Echevarría J.; Saura G. Energy Balance in Solid State Fermentation Process. Acta Biotecnologica v 11: 9-14, 1991.
- 21. Zwietering, M. H., *et al.* Modelling of the bacterial growth curve. Applied and environmental microbiology v 56 n 6: 1875-1881, 1990.
- 22. Zhi, Zelun; Wang, Hui. White-rot fungal pretreatment of wheat straw with *Phanerochaete chrysosporium* for biohydrogen production: simultaneous saccharification and fermentation. Bioprocess and Biosystems Engineering v 37 n 7: 1447-1458, 2014.
- 23. Han, Wei, *et al.* A combined bioprocess based on solid-state fermentation for dark fermentative hydrogen production from food waste. Journal of Cleaner Production v 112: 3744-3749, 2016.
- 24. Onyango B. O., Palapala V. A., Arama P. F., Wagai S. O., Gichimu B. M. Suitability of selected supplemented substrates for cultivation of Kenyan native wood ear mushrooms (*Auricularia auricula*). American Journal of Food Technology (Kenya) v 6 n 5: 395-403, 2011.
- 25. Obodai, M.; Cleland-Okine, J.; Vowotor, K. A. Comparative study on the growth and yield of *Pleurotus ostreatus* mushroom on different lignocellulosic by-products. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology v 30 n 3: 146-149, 2003.

- 26. Delfín-Alcalá, Irma; Durán-De-Bazúa, Carmen. Biodegradación de residuos urbanos lignocelulósicos por *Pleurotus*. Revista internacional de contaminación ambiental v 19 n 1: 37-45, 2003.
- 27. Miles, P. G.; Chang, Shu-Ting. Mushrooms: cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact. CRC press, 2004.
- 28. Narh D. L. *et al.* The efficacy of sorghum and millet grains in spawn production and carpophore formation of *Pleurotus ostreatus*. International Food Research Journal v 18 n 3: 1092-1097, 2011.
- 29. Sales-Campos, Ceci. Análise físico-química e composição nutricional da matéria prima e de substratos pré e pós cultivo de pleurotus ostreatus/physiochemical analyses and nutritional composition of the raw material and substrates before and after cultivation of Pleurotus ostreatus. Interciencia v 35 n 1: 70-76, 2010.
- 30. Pineda, Julio, *et al.* Crecimiento de *Pleurotus ostreatus* en residuos agroindustriales no suplementados. Revista Técnica de la Facultad de Ingeniería. Universidad del Zulia v 38 n 1: 2015.
- 31. Pirt S. J. A kinetic study of the mode of growth of surface colonies of bacteria and fungi. Microbiology v 47 n 2: 181-197, 1967.
- 32. Smits J. P., *et al.* Modelling fungal solid-state fermentation: the role of inactivation kinetics. Bioprocess and Biosystems Engineering v 20 n 5: 391-404, 1999.
- 33. Philippoussis, A. N.; Diamantopoulou, P. A.; Zervakis, G. I. Correlation of the properties of several lignocellulosic substrates to the crop performance of the shiitake mushroom *Lentinula edodes*. World Journal of Microbiology and Biotechnology v 19 n 6: 551-557, 2003.
- 34. Carlsson F. et al. Effect of heat on interspecific competition in saprotrophic wood fungi. Fungal Ecology v 11: 100-106, 2014.
- 35. Millati R. *et al.* Biological pretreatment of lignocelluloses with white-rot fungi and its applications: a review. BioResources v 6 n 4: 5224-5259, 2011.
- 36. Rouches E. *et al.* Improvement of anaerobic degradation by white-rot fungi pretreatment of lignocellulosic biomass: a review. Renewable and Sustainable Energy Reviews v 59: 179-198, 2016.
- 37. Dong Xiu Qin et al. Sugarcane bagasse degradation and characterization of three white-rot fungi. Bioresource technology v 131: 443-451, 2013.
- 38. Bento C., Braga P. *et al.* Influence of white-rot fungi on chemical composition and in vitro digestibility of lignocellulosic agro-industrial residues. African Journal of Microbiology Research v 8 n 28: 2724-2732, 2014.
- 39. Andrino A.; Morte A.; Honrubia M. Caracterización y cultivo de tres cepas de *Pleurotus eryngi*i (Fries) Quélet sobre sustratos basados en residuos agroalimentarios/Characterization and culture of three Pleurotus eryngii (Fries) Quélet strains on food and agriculture wastes. En Anales de Biología. España: Servicio de Publicaciones, Universidad de Murcia, 53, 2011.
- 40. Martínez D. A. et al. Evaluación del crecimiento micelial de *Pleurotus ostreatus y Agrocybe aegerita* sobre orujos de pera/Mycelial growth evaluation of Pleurotus ostreatus and Agrocybe aegerita on pear pomaces. En Anales de Biología. España: Servicio de Publicaciones, Universidad de Murcia, 2015, 1.
- 41. Pineda-Insuasti, J. A.; Ramos-Sánchez, L. B.; Soto-Arroyave, C. P. Cinética del crecimiento de *Pleurotus ostreatus* en la etapa de producción del cuerpo fructífero. ICIDCA. Sobre los derivados de la caña de azúcar (Cuba) v 47 n 3: 56-61, 2013.