

Fisiología y Bioquímica de Microorganismos Utilizados en Procesos de Fermentación en Medio Sólido

S. Roussos y I. Perraud-Gaime

Laboratoire de Biotechnologie PMC, Centre ORSTOM, BP 5045, 34034 Montpellier cedex 1, FRANCE

El término *Fermentación en Medio Sólido (FMS)* indica el cultivo aerobio o anaerobio de microorganismos que crecen en la superficie o al interior de una matriz sólida porosa. Esta matriz puede estar constituida por un sustrato humidificado o por un soporte inerte capaz de absorber los nutrientes que se encuentran disueltos en una solución sin escurrimiento de líquidos. Los hongos filamentosos son los microorganismos más adaptados al cultivo en medio sólido (*Aspergillus*, *Claviceps*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Trichoderma*). Los hongos ectomicorrízicos (*Lactarius*, *Pisolithus*, *Suillus*), como los hongos saprófitos (*Lentinus*, *Pleurotus*), crecen muy bien en medio sólido sobre diferentes materiales biodegradables y no biodegradables. Por ejemplo, el almidón de yuca y la celulosa de bagazo de caña son materiales pertenecientes al primer tipo, mientras que la amberlita y la vermiculita corresponden al segundo tipo. Presentaremos varios ejemplos de FMS y algunos estudios de fisiología y bioquímica de los siguientes microorganismos: *Aspergillus niger*, *Penicillium verrucosum*, *Rhizopus oligosporus*, *Swanniomycetes castellii*, *Trichoderma harzianum*, *Pisolithus tinctorius*, *Suillus colinitus*. Durante los procesos de FMS, la fisiología de crecimiento de estos microorganismos se evalúa por respirometría en continuo y la bioquímica de la biomasa producida se lleva a cabo por muestreo y análisis de los diferentes constituyentes. Tres líneas de investigación nos interesan en este trabajo y los resultados presentados tratan de la producción de biomasa, de enzimas y de metabolitos secundarios (antibióticos, fitohormonas, aromas).

Introducción

La fisiología es la ciencia que estudia las funciones orgánicas por las cuales la vida se manifiesta y se mantiene en su forma individual. Para los hongos filamentosos la vida se manifiesta bajo diferentes formas importantes:

Morfológicas:

- La germinación de las esporas y la multiplicación del micelio.
- La conidiogénesis y la liberación de las esporas.

Bioquímicas:

- La producción de metabolitos primarios.
- La producción de metabolitos secundarios.

Respirométricas:

- La producción de CO₂ y el consumo de O₂ durante el crecimiento exponencial.

De una manera general, el metabolismo de los hongos filamentosos se divide en metabolismo primario y en metabolismo secundario:

El metabolismo primario es el resultado de varias reacciones químicas catalizadas por las enzimas y proporciona a las células la energía y las macromoléculas indispensables para la construcción de las células tales como las proteínas, los polímeros estructurales y el DNA. A partir de este metabolismo, se

pueden obtener un gran número de moléculas de interés industrial, tales como el ácido cítrico producido por *Aspergillus*, diferentes ácidos orgánicos, alcoholes y también muchas enzimas como celulasas, amilasas o pectinasas (1-3). Estos metabolitos primarios se producen por lo general durante el crecimiento exponencial del micelio.

El metabolismo secundario regenera sustancias de menor interés desde el punto de vista de la economía de la célula (4). Dichos metabolitos secundarios se producen cuando el crecimiento apical de los mohos disminuye (5). Mientras que los metabolitos primarios son por lo general comunes para varios microorganismos, los metabolitos secundarios están limitados a algunas especies solamente.

Los hongos filamentosos producen una gran variedad de metabolitos secundarios originados a partir de intermediarios del metabolismo primario y son clasificados según su precursor. El AcetilCoA es el compuesto intermediario del metabolismo secundario de los hongos filamentosos productores de terpenos (carotenoides, ergosterol, ácido giberélico), de derivados de ácidos grasos (poliacetileno), de derivados de aminoácidos (alcaloides, penicillina, cefalosporina) y por último, de policétidos (4).

Los hongos filamentosos (*Aspergillus*, *Claviceps*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Trichoderma*) son los microorganismos más adaptados al cultivo en medio

sólido (1,6-8). Los hongos ectomicorrízicos (*Lactarius*, *Pisolithus*, *Suillus*), como los hongos saprófitos (*Lentinus*, *Pleurotus*), crecen muy bien en medio sólido sobre diferentes sustratos agrícolas (9-10). Estos microorganismos están adaptados a ciertas condiciones de cultivo y pueden desarrollarse en cultivo sólido sobre diferentes sustratos agrícolas bajo condiciones extremas de temperatura, pH, disponibilidad de agua y oxígeno.

El término Fermentación en Medio Sólido (FMS) indica el cultivo aerobio o anaerobio de microorganismos que crecen en la superficie o al interior de una matriz sólida porosa. Esta matriz puede estar constituida por un sustrato humidificado o por un soporte inerte capaz de absorber los nutrientes que se encuentran disueltos en una solución sin escurrimiento de líquidos (11-13).

La técnica de FMS fue utilizada por numerosos investigadores para enriquecer en proteína sustratos agrícolas (14-16), para producir enzimas (17-20) y otros metabolitos primarios y secundarios (Tabla 1). Por lo general los cultivos de microorganismos en

medio sólido se realizan utilizando sustratos agrícolas (salvado de trigo; bagazo de caña, harina de yuca, cáscara de remolacha). A estos sustratos se les agrega una solución de sales y una suspensión de esporas de hongos como inoculante (12, 21-23).

En los últimos años se utiliza una nueva técnica de FMS sobre soporte artificial en donde los nutrientes están disueltos en una solución nutritiva absorbida sobre un soporte sólido. El soporte sólido procura la porosidad al medio de cultivo mientras que el agua lleva disuelta la solución nutritiva con las fuentes de carbono y de nitrógeno y los demás factores de crecimiento (24). Los soportes pueden ser desechos agrícolas (bagazo de caña, paja de cereales, aserrín de madera), minerales (amperlita, vermiculita) o materiales sintéticos (diferentes plásticos porosos). Dichos soportes no son utilizados por los microorganismos (17, 24-27).

A continuación se presentan los principales parámetros fisicoquímicos y ambientales que afectan de una manera drástica la fisiología y bioquímica de los microorganismos durante su crecimiento en cultivos sólidos.

Tabla 1. Algunos ejemplos de uso de los procesos de Fermentación en Medio Sólido (33).

Alimentos fermentados	Quesos	<i>Penicillium</i>
	Koji	<i>Aspergillus oryzae</i>
	Pozol	<i>Lactobacillus</i> spp
	Cacao	Levaduras; <i>Acetobacter</i>
AFEP	Caña de azúcar	<i>Aspergillus terreus</i>
	Yuca	<i>Aspergillus niger</i>
Producción de enzimas	Amilasas	<i>Aspergillus</i>
	Proteasas	<i>Aspergillus</i>
	Celulasas	<i>Trichoderma</i>
	Pectinasas	<i>Aspergillus</i>
Metabolitos secundarios	Aromas	<i>Penicillium</i> ; <i>Ceratocystis</i>
	Penicilina	<i>Penicillium</i>
	Tetraciclina	<i>Streptomyces</i>
	Aflatoxinas	<i>Aspergillus flavus</i>
	Alcaloides	<i>Claviceps</i>
Acidos orgánicos	Acido cítrico	<i>Aspergillus niger</i>
	Acido gálico	<i>Aspergillus niger</i>
	Acido giberélico	<i>Giberella fujikuroi</i>
	Acido láctico	<i>Rhizopus</i>
Producción de alcohol	Etanol	<i>Saccharomyces</i>
	Etanol	<i>Schwanniomycetes</i>
Producción de esporas	Inóculo	<i>Penicillium</i>
	Control biológico	<i>Trichoderma</i>
Compostaje	Compost	Microflora mixta
Ensilaje	Ensilaje	<i>Lactobacillus</i>
Hongos superiores	<i>Pleurotus</i>	<i>Pleurotus</i> spp
Filtros biológicos	Agua negra	Microflora mixta
Aprovechamiento de subproductos	Alimento para ganado	Microflora mixta

Los principales parámetros de FMS

El cultivo de microorganismos sobre diferentes sustratos o soportes sólidos depende de diferentes parámetros y factores ambientales como son: el tipo de microorganismo y la cantidad de inóculo; la humedad y la actividad de agua; la aireación y la transferencia de oxígeno; la regulación de la temperatura y del pH (28-30). Para medir el crecimiento de los microorganismos en FMS, se puede recurrir a la respirometría (31), al análisis de la biomasa con diferentes métodos indirectos (proteínas, quitina, ácidos nucleicos) o por la producción de diferentes metabolitos (32).

Los microorganismos y la inoculación del medio sólido

En los procesos de FMS se usan dos tipos de inoculantes. Primero, la microflora natural o endógena del sustrato y segundo, inoculantes controlados. En los procesos de composteo y de ensilado se prefiere la microflora natural (33), en los procesos de producción de enzimas y de alimentos fermentados se utilizan inóculos puros o inóculos mixtos. Para la producción industrial de Koji se utilizan esporas de *Aspergillus oryzae* (34).

La actividad del agua y la humedad

El papel del agua en los procesos de FMS es

múltiple. Componente dominante en la composición de la biomasa, el agua sirve además de vehículo para las enzimas y los nutrientes, además de facilitar los intercambios gaseosos (11). Una humedad elevada en el sustrato causa una disminución de la porosidad del sustrato, una baja difusión de oxígeno y una alta contaminación. Al contrario, una baja humedad conduce a un crecimiento limitado y disminuye la disponibilidad del sustrato. En la figura 1 se presenta una cinética de producción de CO₂ por *Claviceps purpurea* cultivado en FMS sobre centeno donde se puede notar el papel del contenido inicial de agua en el sustrato.

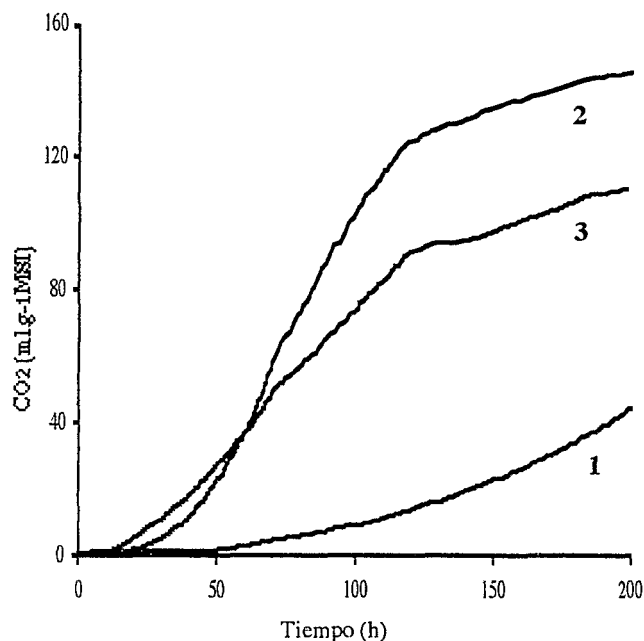


Figura 1. Influencia de la humedad inicial del sustrato sobre la producción de CO₂ por *Claviceps purpurea* cultivado sobre centeno a 26 °C. Contenido inicial de agua: 40% (1); 50% (2) y 60% (3) (37).

Varios autores demostraron la importancia del agua en los procesos de FMS para controlar el crecimiento y el metabolismo de microorganismos (14, 28, 35). El aumento de la humedad y de la disponibilidad del agua causa un aumento de la tasa del crecimiento (μ), de la producción de biomasa y de la biosíntesis de enzimas (11, 13, 36, 37).

La aireación y el cambio de metabolismo

Por lo general, en los procesos de FMS se utilizan microorganismos aerobios por lo que la aireación de los medios de cultivo es de sumo interés para el desarrollo de los microorganismos, ya que permite realizar diferentes funciones:

- abastecimiento en oxígeno para los cultivos
- regulación de la humedad
- regulación de la temperatura
- eliminación de metabolitos volátiles (CO₂, alcoholes)

El efecto de la concentración de CO₂ y del O₂ en la fase gaseosa sobre el crecimiento y el metabolismo de *Aspergillus oryzae* para la producción de amilasas y proteasas en FMS fue estudiado(38). Se demostró que la producción óptima de amilasas se obtiene durante la fase exponencial de crecimiento con bajas concentraciones de CO₂ (de 2% a 5%) y, al contrario, para la producción de proteasas se necesita una concentración elevada de CO₂ (5%) durante la fase estacionaria. Por otro lado, se ha confirmado que el crecimiento apical y la producción de biomasa por *Rhizopus oryzae* están relacionados con la concentración del CO₂ en la fase gaseosa de los medios de cultivo (3). De la misma manera la producción de biomasa de *Schwanniomyces castellii* depende directamente de la tasa de aireación de los cultivos en FMS (13). El mismo autor demostró que el control del metabolismo de esta levadura puede llevarse a cabo con la monitoreo de la tasa de CO₂ presente en la fase gaseosa durante el proceso de FMS (39). Asimismo, las concentraciones elevadas de CO₂ (16-22%) estimulan la producción de micelio de *Pleurotus* (9).

Los cultivos mixtos de bacterias lácticas y hongos filamentosos para la conservación y la decafeinación de la pulpa de café son otro ejemplo del efecto de la aireación sobre el cambio de metabolismo y de estructura de la microflora natural (33). Se ha demostrado que la población de microorganismos cambia en función de la aireación de los cultivos. Aunque las poblaciones microbianas aumentan o disminuyen según la aireación, estas mismas poblaciones pueden desarrollarse de nuevo después de que las condiciones ambientales cambien.

La temperatura

Los hongos filamentosos que se utilizan en los procesos de FMS son por lo general mesófilos y crecen a temperaturas óptimas entre 29 y 35 °C. Sin embargo, la producción de calor metabólico durante los procesos de FMS causa un aumento importante de la temperatura y si este calor no se elimina rápidamente del medio de cultivo, puede causar el paro definitivo del crecimiento de los microorganismos (1, 3, 29). Diferentes autores proponen estrategias para la regulación de la temperatura. Frecuentemente se utiliza la aireación y la evaporación del agua para controlar automáticamente la humedad y la temperatura en los procesos de FMS (29, 40-41). Otra estrategia consiste en utilizar microorganismos termófilos o termoresistentes.

La evolución del pH

Los hongos filamentosos crecen en medios ácidos y pueden tolerar importantes cambios del pH (2.5 hasta 7.5). Sin embargo la medida del pH *in situ* durante los procesos de FMS es particularmente difícil. Para evitar una disminución importante del pH, se ha utilizado con éxito una mezcla de sulfato de amonio y de urea en el medio de cultivo como fuente de nitrógeno (14-42).

Los hongos ectomicorrízicos y saprófitos, necesitan para su crecimiento pH neutros y estables (6.0 hasta 7.5). Para ello se utilizan nitratos mezclados con urea (10).

Los microorganismos y la cantidad de inóculo

La principal dificultad que se presenta para el escalamiento de los procesos de FMS es poder disponer de una gran cantidad de inóculo viable. Se han propuesto diferentes técnicas de producción y conservación de inóculo (23, 43), con objeto de optimizar la cantidad de inóculo indispensable para la colonización uniforme y el desarrollo rápido del microorganismo en la superficie del sustrato. Para reducir la fase lag de crecimiento, es necesario inocular los medios de cultivo con una suspensión de $2 \cdot 10^7$ esporas por gramo de materia seca según se ha optimizado para *Aspergillus niger*, *Trichoderma harzianum*, *Claviceps purpurea*, *Rhizopus oryzae* (3, 11, 14, 36, 37).

Las cinéticas de producción de CO₂ en cultivos de *Schwanniomyces castellii* con diferentes concentraciones de inóculo cultivado en FMS sobre soporte pueden medirse por respirometría (Figura 2).

Ejemplos de FMS

A continuación presentaremos varios ejemplos de FMS para el enriquecimiento protéico de sustratos agrícolas, para la producción de enzimas o metabolitos, para la detoxificación y para la valorización de desechos agrícolas por ensilado o por composteo.

Enriquecimiento protéico de productos agrícolas

Desde la antigüedad, en diferentes países se preparan alimentos tradicionales aplicando procesos de FMS (44). La diversidad de alimentos y bebidas preparados con dicho proceso en los países del lejano Oriente, de Africa, de Europa, y de America Latina no es perfectamente conocido todavía (33). Diversos productos y desechos agrícolas (harina de yuca, desechos de plátano, bagazo de caña, pulpa de café,

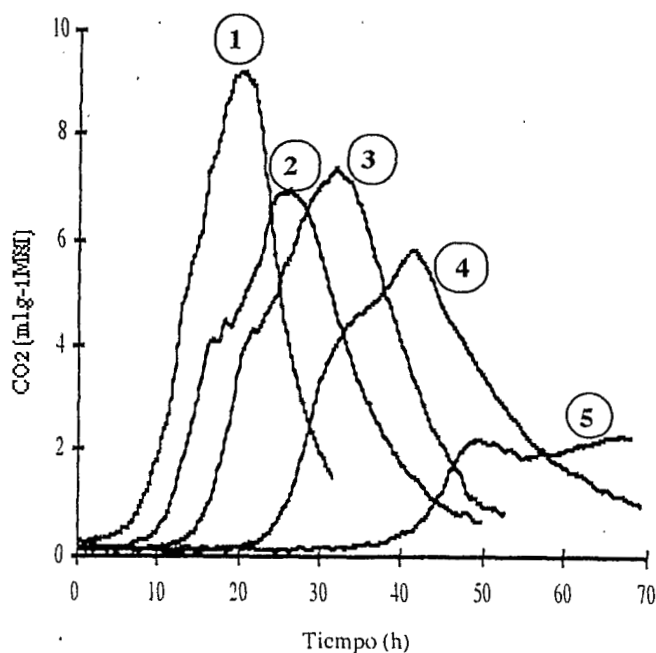


Figura 2. Efecto de la tasa de inóculo sobre la velocidad de producción de CO₂ durante el crecimiento de *Schwanniomyces castellii* en FMS. Los números de 1 a 5 de la figura corresponden respectivamente a las siguientes tasas (cantidad de células por ml): $5.7 \cdot 10^7$; $3.9 \cdot 10^6$; $5.8 \cdot 10^5$; $3.8 \cdot 10^4$ y $3.6 \cdot 10^3$ (13).

torta de copra) han sido utilizados como sustrato para producir alimentos enriquecidos en proteína, y producir alimentos para ganado (15, 16, 21, 45-48). A pesar de que los resultados obtenidos a nivel de laboratorio y a nivel planta piloto fueron buenos desde el punto de vista de enriquecimiento protéico, no hay todavía ejemplos de producción de alimentos para ganado a nivel industrial. Desde el punto de vista económico, es más atractivo producir por FMS biopesticidas, probióticos, enzimas y otros metabolitos (12, 40, 49).

Producción de enzimas en FMS sobre soporte

El estudio de la producción de enzimas en medio sólido con medios de cultivo sintéticos, impregnados sobre soporte inerte permite estudiar el comportamiento de los hongos filamentosos en relación con la composición de los medios de cultivo, la influencia de la actividad del agua, la liberación de calor (11), así como la influencia de la transferencia de gases. Además, la recuperación de metabolitos en estas condiciones se realiza por prensado lo que permite obtener un producto concentrado, como se demostró en

el caso de las celulasas (36), las amilasas (17) y las pectinasas (50). Por el contrario, en cultivos sólidos en los cuales el soporte es también el sustrato, es difícil evaluar la influencia de un solo factor sobre el comportamiento de un microorganismo, ya que en gran parte estos sustratos son muy complejos y su composición dificulta la determinación de los diferentes parámetros importantes en cultivo sólido. A continuación presentaremos un ejemplo sobre la influencia de la sacarosa sobre la producción de las pectinasas por *A. niger* cultivado en FMS.

Pectinasas

La figura 3 muestra la producción de pectinasas y el consumo de sacarosa durante el crecimiento de *Aspergillus niger* en FMS sobre soporte (bagazo de caña). Se observa que después de 30 horas de fermentación la sacarosa presente en el medio ha sido asimilada totalmente. Al cabo de ese tiempo, comienza la síntesis de enzimas pécticas. Esto confirma el efecto diaúxico de la sacarosa junto con la pectina sobre el crecimiento de *A. niger*. La primera favorece el crecimiento micelial ya que es una fuente de carbono más asimilable. La segunda comienza a ser degradada cuando la sacarosa se agota e induce la síntesis de enzimas. Estos cambios en el metabolismo del hongo son una respuesta al efecto del medio de cultivo. La producción en cultivo sólido fue más alta que en cultivo sumergido (50).

Degradación de la cafeína de la pulpa de café

A continuación se presenta un ejemplo de selección entre ocho cepas de hongos filamentosos capaces de detoxificar la pulpa de café en FMS. Por otra parte, se buscó un parámetro físico, fácil de medir en FMS, relacionado con la degradación de la cafeína y la esporulación de las cepas.

Se consideraron los siguientes cinco parámetros: degradación de la cafeína después de 30 horas de FMS, duración de la fase lag, inicio de esporulación, CO₂ total producido y evolución del pH. En la Tabla 2 se presentan los resultados obtenidos con las diferentes cepas bajo las mismas condiciones experimentales. Se utilizó pulpa de café como sustrato y soporte, se inoculó con una suspensión de esporas y la FMS se realizó con los siguientes parámetros: aireación 4 l/h*columna; temperatura 25°C; tiempo 48 horas.

Después de 48 horas de cultivo, solamente con la cepa C11B25 no se observó degradación de la cafeína. Las cepas mostraron diferentes tiempos de germinación. Se seleccionó la cepa de *Penicillium* V33A25 por sus características atractivas según los

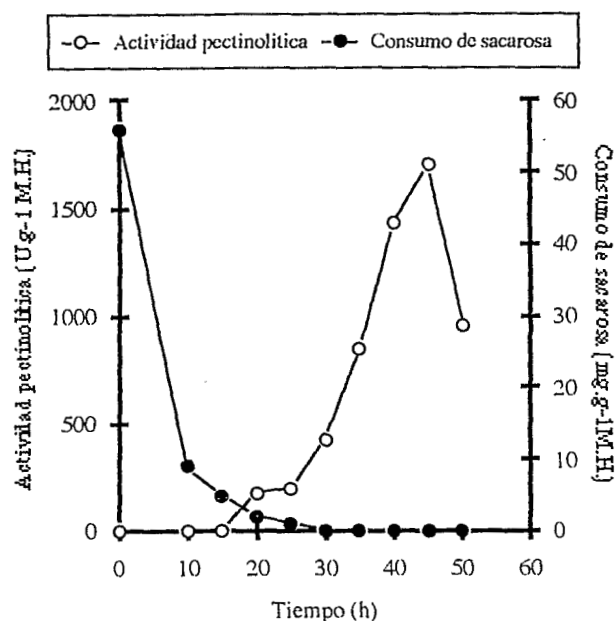


Figura 3. Cinéticas de producción de pectinasas y consumo de sacarosa durante el crecimiento de *Aspergillus niger* en fermentación en medio sólido (FMS) sobre soporte, con la relación 1:2 de pectina/sacarosa a 30 °C (50).

Tabla 2. Criterios importantes para seleccionar la mejor cepa de hongos filamentosos con capacidad para degradar la cafeína de la pulpa de café en fermentación sólida (33).

Cepas	Fase lag h	CO ₂ ml.g ⁻¹ MS ⁻¹	Diferencia pH final - pH inicial	Degradación de la cafeína % a 30 h	Inicio de la esporu- lación h
<i>Penicillium</i> V26A25	12,5	115	+ 3,24	91	32
<i>Penicillium</i> V33A25	11,5	95	+ 3,14	94	30
<i>Aspergillus</i> C16A25	13	100	- 0,97	80	32
<i>Aspergillus</i> V12A25	10,5	130	+ 1,85	82	28
<i>Aspergillus</i> C17B25	17	65	- 0,95	87	32
<i>Aspergillus</i> C11B25	20	65	+ 2,90	12	42
<i>Aspergillus</i> C28B25	11	100	- 0,41	94	32
<i>Aspergillus</i> C23B25	11	85	+ 2,83	79	30

parámetros de selección: alta degradación de la cafeína, inicio de esporulación retrasado, una gran diferencia entre el pH inicial y final, una fase lag normal y una alta producción de CO₂ (33). Por otro lado se midió la respirometría de cada cepa durante la FMS sobre pulpa

de café. En la figura 4 se presenta la evolución del CO₂, del pH, de la degradación de la cafeína y el tiempo del inicio de la esporulación (marcado con una flecha). Estos cuatro parámetros fueron los más importantes para seguir el crecimiento de *Penicillium* sobre pulpa de café en FMS.

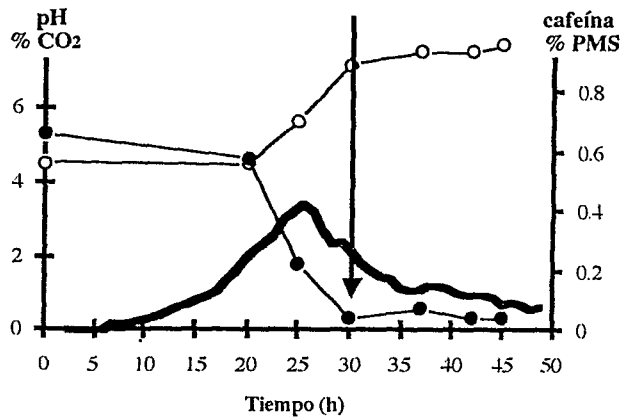


Figura 4 : Crecimiento del *Penicillium* V33A25 en FMS sobre pulpa de café. Evolución del CO₂ (—), del pH (O) y de la cafeína (●). La flecha representa el inicio de la esporulación (33).

La medición de CO₂ se realiza en línea a partir del análisis de los gases a la salida del fermentador. Como puede apreciarse este parámetro ofrece la mejor información sobre el estado fisiológico de la cepa y permite además la estimación de otros parámetros tales como el pH, la esporulación y la degradación de la cafeína.

Conclusión

Durante los procesos de FMS, la fisiología de crecimiento de los microorganismos puede evaluarse por respirometría en continuo. La bioquímica de la biomasa producida se lleva a cabo por muestreo y análisis de los diferentes constituyentes. Hemos presentado únicamente algunos ejemplos de utilización de la FMS. Por otra parte estamos trabajando sobre la respirometría de hongos ectomicorrízicos y saprofitos utilizando la misma técnica de FMS sobre soporte y los resultados obtenidos son similares. Se puede correlacionar la producción de metabolitos primarios y secundarios con los resultados de respirometría.

Referencias Bibliográficas

- Raimbault, M. and D. Alazard, *Eur. J. Appl. Microbiol.*, **9**, 199 (1980).
- Roussos, S. y M. Raimbault, *Ann. Microbiol.*, **133**, 465 (1982).

- Soccol, C., *Thèse de doctorat*, UTC Compiègne, France, 218 p (1982).
- Blanc, J.P., M.O. Loret and G. Goma, in : *Advances in SSF*, Roussos, Lonsane, Raimbault & Viniegra (Eds), in press (1995).
- Trejo-Hernandez, M.R., M. Raimbault, S. Roussos and B.K. Lonsane, *Lett. Appl. Microbiol.*, **15**, 156 (1992).
- Trejo-Hernandez, M.R., B.K. Lonsane, M. Raimbault and S. Roussos, *Process Biochem.*, **28**, 23 (1993).
- Soccol, C.R., J.A. Rodriguez, B. Marin, S. Roussos and M. Raimbault, *Biotechnol. Techniques*, **7**, 563 (1993).
- Roussos, S., M.A. Aquiahuatl, M. Trejo-Hernandez, I. Gaime-Perraud, E. Favela, M. Ramakrishna, M. Raimbault and G. Viniegra-Gonzalez, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **42**, 756 (1995).

- Zadrazil, F., *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **1**, 327 (1975).
- Roussos, S., E. Bresson, G. Saucedo-Castañeda, P. Martinez, J.M. Olivier and J. Guymberteau, in: *Advances in SSF*, Roussos, Lonsane, Raimbault & Viniegra (Eds), in press (1995).
- Oriol, E., *Thèse de doctorat*, INSA-Toulouse, France, 133 p (1987).
- Lonsane, B.K., G. Saucedo-Castañeda, M. Raimbault, S. Roussos, G. Viniegra-Gonzalez, N.P. Ghildhyal, M. Ramakrishna and M.M. Krishnaiah, *Process Biochem.*, **27**, 259 (1992).
- Saucedo-Castañeda, G., *Thèse de Doctorat*, Université de Montpellier II, France, 212 p (1991).
- Raimbault, M., *Thèse d'Etat*, Univ. Paul Sabatier, Toulouse, France, 291 p (1980).
- Senez, J.C., *Acta Biotechnol.*, **3**, 299 (1983).
- Gonzalez-Blanco, G. Saucedo-Castañeda and G. Viniegra-Gonzalez, *J. Ferment. Technol.*, **70**, 351 (1990).

17. Oriol, E., B. Schettino, G. Viniegra-Gonzalez and M. Raimbault, *J. Ferment. Technol.*, **66**, 56 (1988).
18. Lonsane, B.K., N.P. Ghildyal, S. Budiartman and S.V. Rama Krishna, *Enzyme Microbiol. Technol.*, **7**, 258 (1985).
19. Deschamps, F., C. Guilliano, M. Asther, M.C. Huet, and S. Roussos, *Biotechnol. Bioeng.*, **27**, 1385 (1985).
20. Fukushima, D., in Use of enzymes in food technology, Versailles, CNERNA (CNRS), 381 (1982).
21. Raimbault, M., S. Revah, F. Pina and P. Villalobos, *J. Ferment. Technol.*, **63**, 395 (1985).
22. Durand, A., D. De La Broise and H. Blachere, *J. Biotechnol.*, **8**, 59 (1988).
23. Roussos, S., A. Olmos, M. Raimbault, G. Saucedo-Castañeda and B.K. Lonsane, *Biotechnol. Tech.*, **5**, 415 (1991).
24. Raimbault, M., S. Roussos, E. Oriol, J. Barrios, M. Gutierrez-Rojas and G. Viniegra-Gonzalez, Brevet Français n° 89. 06 558 (1989).
25. Barrios-Gonzalez, J., A. Tomasini and G. Viniegra-Gonzalez, *Biotechnol. Lett.*, **10**, 793 (1988).
26. Auria, R., S. Hernandez, M. Raimbault and S. Revah, *Biotechnol. Tech.*, **4**, 391 (1990).
27. Auria, R., J. Palacio and S. Revah, *Biotechnol. Bioeng.*, **39**, 898 (1992).
28. Oriol, E., M. Raimbault, S. Roussos and G. Viniegra-Gonzales, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **27**, 498 (1988).
29. Saucedo-Castañeda, G., M. Gutierrez-Rojas, G. Bâcquet, Raimbault M. and G. Viniegra-Gonzalez, *Biotechnol. Bioeng.*, **35**, 802 (1990).
30. Lambraki, M., S. Marakis and S. Roussos, *Micol. Neotrop. Apl.*, **7**, 23 (1994).
31. Rodriguez, J.A., A. Torres, J. Echevarria and G. Saura, *Acta Biotechnol.*, **11**, 9 (1991).
32. Roche, N., A. Venague, C. Desgranges and A. Durand, *Bio-technol. Adv.*, **11**, 677 (1993).
33. Perraud-Gaime, I., *Thèse de Doctorat*, Univ. de Montpellier II, France, 209 p (1995).
34. Pandey, A., *Process Biochem.*, **27**, 109 (1992).
35. Gervais, P. and M. Bensoussan, in: *Biotechnology Handbooks N°7: Aspergillus* Smith J.E. Ed. Plenum Press, New York, 101 (1994).
36. Roussos, S., *Thèse d'Etat*, Univ. Aix-Marseille I, France, 193 p (1985).
37. Trejo-Hernandez, M., *Thèse de doctorat*, Univ. de Provence, France, 173 p (1992).
38. Narahara, H., Y. Koyama, T. Yoshida, S. Pichangkuras, R. Ueda and H. Taguchi, *J. Fermentat. Technol.*, **60**, 311 (1982).
39. Saucedo-Castañeda, G., M.R. Trejo-Hernandez, B.K. Lonsane, J.M. Navarro, S. Roussos, D. Dufour and M. Raimbault, *Process Biochem.*, **29**, 13 (1994).
40. Durand, A. and D. Chereau, *Biotechnol. Bioeng.*, **31**, 476 (1988).
41. Saucedo-Castañeda, G., B.K. Lonsane, M.M. Krishnaiah, J.M. Navarro, S. Roussos and M. Raimbault, *Process Biochem.*, **27**, 97 (1992).
42. Saucedo-Castañeda, G., B.K. Lonsane, J.M. Navarro, S. Roussos and M. Raimbault. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **15**, 164 (1992).
43. Roussos, S., M.A. Aquihuatl, M.A. Brizuela and A. Olmos, *Micol. Neotrop. Aplic.*, **2**, 3 (1989).
44. Hesseltine, C.W., *Mycologia*, **57**, 149 (1965).
45. Senez, J.C., M. Raimbault and F. Deschamps, *World Anim. Zoot.*, **35**, 36 (1980).
46. Baldensperger, J., J. Le Mer, L. Hannibal and P.J. Quinto, *Biotechnol. Lett.*, **7**, 743 (1985).

47. Peñaloza, W., M.R. Molina, R. Gomez-Brenez and R. Bressani, *Appl. Environ. Microbiol.*, **49**, 388 (1985).

48. Roussos, S., L. Hannibal, A. Durand, M. Diez, G. Saucedo, D. Montet and J. Graille, *Oléagineux*, **49**, 235 (1994).

49. Tapia, I.M., R. Herrera R., G. Viniegra, M. Gutierrez and S. Roussos, in *Memorias I Sem. Intern. Biotecnol. Agroindust. Café (I SIBAC)*, Roussos, Licona y Gutierrez (Eds), Xalapa, México, 153 (1989).

50. Trejo-Hernandez, M., E. Oriol, A. Lopez-Canales, S. Roussos, G. Viniegra-Gonzalez and M. Rimbault, *Micol. Neotrop. Apl.*, **4**, 49 (1991).

Physiology and Biochemistry of Microorganisms Used in Solid State Fermentation Processes

S. Roussos and I. Perraud-Gaime

Laboratoire de Biotechnologie PMC, Centre ORSTOM, BP 5045, 34034 Montpellier cedex 1, FRANCE

Solid state fermentation (SSF) deals with the cultivation of aerobic and anaerobic microorganisms on the surface or inside porous solid matrices. These solid matrices can act as substrates or as inert supports and absorb the components of the culture medium without liquid draining. Filamentous fungi (Aspergillus, Claviceps, Penicillium, Rhizopus, Trichoderma) are the most adapted microorganisms for SSF. Ectomycorrhizal fungi (Lactarius, Pisolithus, Suillus) as well as saprophytic fungi (Lentinus, Pleurotus) grow well on solid media containing different biodegradable and non biodegradable materials. For instance, manioc starch and sugar cane cellulose are biodegradable supports, while amberlite and vermiculite are non biodegradable supports. The growth of these microorganisms is evaluated by respirometry (continuous measurement of CO₂ and O₂) and the biochemistry of the produced biomass is accomplished by analyzing different cellular constituents. Some studies on physiology and biochemistry of microorganisms such as Aspergillus niger, Penicillium verrucosum, Rhizopus oligosporus, Schwanniomyces castellii, Trichoderma harzianum, Pisolithus tinctorius and Suillus colinitus growing in SSF are presented.

Agroindustrial Applications of Solid State Fermentation Processes

C. R. Soccol

Laboratorio de Procesos Biotecnológicos, Departamento de Ingeniería Química, Universidad Federal de Paraná, 81531-970 Curitiba-Pr, BRAZIL

In this work, the potential of solid state fermentation (SSF) for the exploitation of agroindustrial wastes is discussed, taking manioc bagasse as a model of solid substrate. Manioc bagasse is a solid residue produced in large quantities from starch producing industries in Brazil. This residue constitutes a constant threat to the environment due to its high concentration of organic material. Dehydrated manioc bagasse contains starch (40-60%), proteins (1.5-2.0%) and fiber (20-30%); its composition varies depending on the process of starch extraction. This work describes the possible use of this residue. The first study deals with protein enrichment of manioc bagasse by fungi of the genus Rhizopus, capable of degrading crude manioc starch (without gelatinization). The second study shows citric acid production from manioc bagasse. Finally, manioc bagasse was used for the production of basidiomycetes such as Pleurotus and Lentinula edodes.

FRONTERAS

en BIOTECNOLOGÍA

y BIOINGENIERÍA

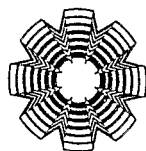
EDITADO POR

DR. ENRIQUE GALINDO

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
CUERNAVACA, MORELOS, MÉXICO

CON LA COLABORACIÓN DE

Dr. Eduardo Bárzana (FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM)
Ing. Gustavo Dávila (MEXAMA, S. A. DE C. V.)
Dra. Amelia Farrés (FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM)
Dr. Ernesto Favela (UAM-IZTAPALAPA)
Dr. Gustavo F. Gutiérrez (ENCB, IPN)
Dr. Mariano Gutiérrez (UAM-IZTAPALAPA)
Dr. Miguel Lara (INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA, UNAM)
Mtro. Oscar Monroy (UAM-IZTAPALAPA)
Dr. Adalberto Noyola (INSTITUTO DE INGENIERÍA, UNAM)
Ing. Hugo Velasco (ENCB, IPN)
Dra. Thelma L. Villegas (ENCB, IPN)
Dr. Gustavo Viniegra (UAM-IZTAPALAPA)



SOCIEDAD MEXICANA DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOINGENIERÍA, A. C.

1996