

PRODUCCIÓN DE CELULASAS Y AZÚCARES EMPLEANDO EL BAGAZO DE LAS HOJAS DE AGAVE SALMIANA

Julio Silva Mendoza ^a; Jesús Alberto Gómez Treviño ^a; Leonardo Chávez Guerrero ^b; María Elena Cantú Cárdenas ^a

^a Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Ciencias Químicas. San Nicolás de los Garza 66455

^b Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Ingeniería Mecánica y Eléctrica. San Nicolás de los Garza 66455

e-mail de autor responsable: elecantu@yahoo.com.mx

Palabras clave: azúcares reductores; hidrólisis enzimática; residuos lignocelulósicos.

Introducción. Los hongos son microorganismos de gran importancia biotecnológica debido a su capacidad de producir celulasas que se emplean en la hidrólisis de biomásas lignocelulósicas para la obtención de azúcares durante la producción de bioetanol. Por otro lado, las hojas de agave son un residuo generado en las industrias de bebidas alcohólicas; las cuales poseen una alta cantidad de carbohidratos como celulosa e inulina que podrían ser aprovechados (1). El bagazo (hojas descortezadas) corresponde a las fibras de celulosa embebidas en una matriz; tejidos internos de las hojas que contienen inulina, glucosa y celulosa de tamaño nanométrico (nanocelulosa) (2). El objetivo del trabajo fue emplear el bagazo como fuente de carbono para la producción de celulasas del hongo *Penicillium* sp aislado del agave y el uso de estas enzimas para obtener azúcares a partir de la hidrólisis de la celulosa del agave.

Metodología. El bagazo fue lavado con agua caliente, secado y molido. El hongo se cultivó a 28 °C en matraces de 125 mL conteniendo 3 g de bagazo y 15 mL de medio Mandels & Weber modificado (g/L: 2 KH₂PO₄, 1.4 (NH₄)₂SO₄, 0.3 MgSO₄, 0.3 CaCl₂, 1 peptona, 1 levadura y 1 mL de tritón X-100). Cada dos días las enzimas se recuperaban de los matraces con 30 mL de buffer de acetatos pH 5 y se evaluaba la producción de endoglucanasas, exoglucanasas y β-glucosidasas empleando como sustratos carboximetilcelulosa (CMC), celulosa microcristalina (CM) y 4-nitrofenil β-D glucopiranosido (pNGP), respectivamente. Las enzimas crudas se emplearon para hidrolizar 4 sustratos diferentes: CM, nanocelulosa aislada de la matriz (libre de azúcares) (3), y las fibras y la matriz; separadas del bagazo de manera manual y sin tratamiento con agua caliente para conservar los azúcares (inulina y glucosa) (2). Las hidrólisis se llevaron a cabo a pH 5, 50 °C y a tiempos de 12, 24 y 48 h, empleando 5 mg de cada sustrato. Se evaluó la liberación de glucosa por el método del ácido 3, 5 DNS (4).

Resultados. En la Fig. 1 se observa que la actividad exoglucanasa es constante a partir de los 2 días, mientras que la de endoglucanasa y β-glucosidasa sigue aumentando hasta los 10 y 8 días, respectivamente. Para la hidrólisis de los sustratos se usaron las enzimas crudas recuperadas a los 10 días de cultivo, que corresponde con la máxima actividad de las endo y exo glucanasas. De los tres tipos de celulasas evaluadas, la nanocelulosa es la que resultó más fácil de hidrolizar (Tabla 1), lo cual es debido a su pequeño tamaño; ya que presenta una mayor área superficial, además de una baja cristalinidad (3). Cuando se hidroliza la matriz se obtienen más del doble de azúcares, ya que probablemente están presentes inulinasas en el concentrado enzimático que estén hidrolizando la inulina de la matriz. Esto favorece la obtención de una mayor cantidad de

azúcares fermentables. Además, los azúcares eliminados durante los lavados del bagazo también pueden ser aprovechados para la fermentación alcohólica

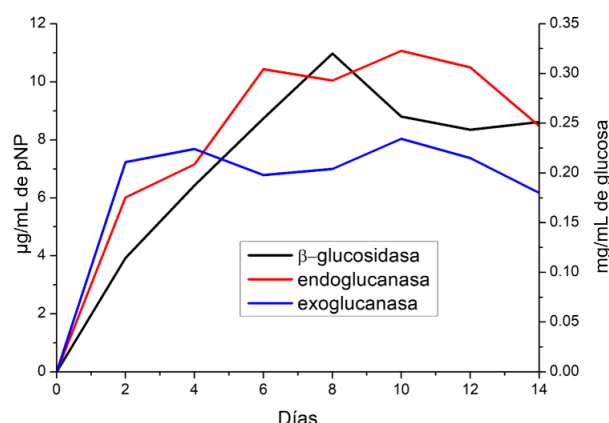


Fig. 1. Actividad de las celulasas producidas por fermentación sólida. La glucosa es liberada por la hidrólisis de la CMC y CM, mientras que el pNP (p-nitrofenol) por la hidrólisis del pNGP.

Tabla 1. % de hidrólisis de los diferentes sustratos.

Horas	CM	Fibras	Nanocelulosa	Matriz
12	8	13	13.8	20.4
24	12	14.4	19.2	30.8
48	14.8	16.4	24	51.6

Conclusiones. La actividad máxima determinada para cada enzima fue de 7.46, 0.90 y 0.92 U/g de biomasa para endoglucanasas, exoglucanasas y β-glucosidasas, respectivamente. La matriz de agave es una buena fuente para la obtención de azúcares a partir de la hidrólisis de sus carbohidratos. El bagazo de las hojas de agave se puede emplear como fuente de carbono para el crecimiento de hongos productores de celulasas, sin embargo, es necesario optimizar las condiciones de cultivo para la producción de una mayor cantidad de celulasas, ya que aún es baja en comparación con la ya reportada en la bibliografía (5).

Agradecimientos. A CONACyT por la beca otorgada (514440).

Bibliografía.

- Corbin et al. (2015) *PLoS One*. 10(8): e0135382.
- Silva-Mendoza J et al. (2018) *Cellulose*.
- Chávez-Guerrero et al. (2019) *Carbohydr Polym*. 210: 85-91.
- Miller GL (1959) *Anal. Chem*. 31(3): 426-428.
- Deswal et al. (2011) *Bioresour. Technol*. 102: 6065-6072.

