



LIBERACIÓN DE LA β -GLUCOSIDASA DE *Cellulomonas flavigena* PR-22 POR MÉTODOS MECÁNICOS EN SACARIFICADOS DE BAGAZO DE CAÑA.

Enrique González Bautista¹, Ana Carmela Ramos Valdivia¹, Eliseo Cristiani Urbina², Teresa Ponce Noyola^{1*}.

¹Departamento de Biotecnología y Bioingeniería CINVESTAV-IPN, Av. Instituto Politécnico Nacional 2508, Col. San Pedro Zacatenco, C.P. 07360 México, D.F. ²Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del IPN, Prolongación de Carpio y Plan de Ayala s/n, Col. Santo Tomas C.P. 11340 Delegación Miguel Hidalgo México. Email:

enrique0306@gmail.com, tponce@cinvestav.mx*

*Responsable del proyecto

Palabras clave: Bagazo de caña, Cellulomonas, Sacarificados.

Introducción. El bagazo de caña es uno de los principales residuos agrícolas que se genera en el país. (1). Este residuo puede ser sacarificado por las holocelulasas (xilanasas, CMCasas y β -glucosidasa), producidas por microorganismos celulolíticos como *Cellulomonas flavigena* PR-22, donde se liberan azúcares como pentosas y hexosas los cuales pueden ser fermentados a bioetanol de segunda generación. Sin embargo la β -glucosidasa la cual es una enzima clave para la hidrólisis de celobiosa en una enzima intracelular, por lo que es necesario lisar a *C. flavigena* para la liberación de dicha enzima. La lisis bacteriana puede ser biológica (lisozima), química (detergentes) o física (molienda), cada uno de los métodos es efectivo sin embargo los procesos físicos son más baratos y reproducibles (2).

Sin embargo existen compuestos que se liberan durante la sacarificación de la lignocelulosa como son los compuestos fenólicos, los cuales pueden unirse a las holocelulasas e inhibir su actividad (3). Por lo anterior, en el presente trabajo se evaluó la liberación de compuestos fenólicos totales durante la sacarificación del bagazo de caña utilizando holocelulasas de *C. flavigena* PR-22, y su β -glucosidasa obtenida mediante lisis celular para la obtención de glucosa y su eventual posterior fermentación.

Metodología. Se realizaron varios tratamientos de sacarificación de bagazo de caña de azúcar (3% p/v) con holocelulasas de *C. flavigena* PR-22 y la β -glucosidasa liberada por métodos físicos. Se realizaron 2 tratamientos con perlas de vidrio (10 piezas de 4mm y 20 piezas de 5mm), 2 con perlas de acero (10 piezas de 4mm y 20 piezas de 3mm) y un tercero utilizando lisozima como control positivo (1mg/ml). Todos los tratamientos se realizaron a 50°C y 200 rpm. Se determinaron azúcares reductores mediante el método de DNS y para los compuestos fenólicos se utilizó el método de Folin-Ciocalteu con un paso previo de precipitación de proteína con ácido tricloroacético (TCA). Para la detección de la actividad de β -glucosidasa se utilizó el método de pNPG.

Resultados. La **Tabla 1** muestra los resultados de azúcares totales, compuestos fenólicos totales y actividad

de β -glucosidasa producidos en cada uno de los tratamientos.

Tabla. 1. Cantidad de C. fenólicos, azúcares totales y actividad de β -glucosidasa en los diferentes tratamientos del sacarificado.

	C. fenólicos (μ g/ml)	Azúcares (mg/ml)	β -glucosidasa (UI/L)
Control negativo	62	4.2	No detectable
Perlas vidrio (10 piezas 4mm)	78	3.2	No detectable
Perlas vidrio (20 piezas 5mm)	144	3.5	No detectable
Perlas metal (10 piezas 4mm)	69	2.6	170
Perlas metal (20 piezas 3mm)	86	5.2	117
Lisozima (control positivo)	60	4.5	80

Conclusiones. Los tratamientos con perlas de metal logran liberar la β -glucosidasa, en el tratamiento con 20 perlas de 3 mm se liberan una mayor cantidad de azúcares reductores. La concentración obtenida de los compuestos fenólicos no logró inhibir la β -glucosidasa.

Agradecimiento. El desarrollo de este trabajo está apoyado con el proyecto Conacyt 236895 y la beca de maestría 366617.

Bibliografía.

1. CONAE, ahorro de combustible del transporte en México, Comisión Nacional Para el Ahorro de Energía (2007).
2. Faure D, Desair J, Keijers V, Berki M A, Proost P, Henrissat B, Vanderleyden J (1999) Growth of *Azospirillum irakense*KBC1 on the aryl β -glucosidase salicin requires either *salA* or *salB*. J Bacteriol. 181: 3003-3009.
3. Martín C, Galbe M, Wahlbom CF, Hanh-Hagerdal B, (2002) Ethanol production from enzymatic hydrolysates of sugarcane bagasse using recombinant xylose utilising *Saccharomyces cerevisiae*. Enzyme Microb Tech. 31:274-282.