



ADSORCIÓN DE CELULASAS EN LOS SÓLIDOS DEL BAGAZO DE AGAVE PRODUCIDO MEDIANTE DIFERENTES PRETRATAMIENTOS

Yessenia Nacahuelt Medina López¹, Juan Carlos López Rico², José Antonio Pérez Pimienta². Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas y Farmacéuticas¹, Departamento de Ingeniería Química², Universidad Autónoma de Nayarit. Tepic, Nayarit, 63155, México. Email: yesi_neta@hotmail.com.

Palabras clave: Adsorción, sacarificación, pretratamiento, bagazo de agave.

Introducción. Durante algunos procesos agroindustriales se generan residuos o subproductos (1) que suelen ocasionar daño y durante su eliminación hay procesos que aportan una gran liberación de CO₂ contaminando los ecosistemas; una solución viable a este problema es el reciclaje de estos residuos, ya que estos materiales son fuentes especialmente atractivas por su contenido de compuestos químicos (como azúcares) y su bajo costo. El bagazo de Agave (BAG) es el residuo lignocelulósico generado en la fabricación del tequila (2). Debido a su composición puede ser potencialmente útiles cuando se les transforma mediante diversos pretratamientos para la obtención de compuestos simples que se utilizan en la producción de químicos de alto valor agregado, tal como el etanol. El objetivo general es determinar la adsorción de celulasas en BAG pretratado y evaluar su subsecuente producción de azúcares.

Metodología. El bagazo de Agave *tequilana* Weber variedad azul, fue donado por Destilería Rubio, (Tequila, Jalisco, México). Se lavara con abundante agua destilada, secado y tamizado.

Pretratamiento ácido

La biomasa molida se pretrató empleando una carga de sólidos del 10 % (p/p) y 2 % (p/p) H₂SO₄ a 130 °C y 20 lb/in² durante 30 min.

Pretratamiento alcalino

Empleando una carga de sólidos del 10% (p/p) y 1 % (p/p) NaOH a 121 °C durante 30 min.

Pretratamiento con líquidos iónicos (LI)

Se realizó empleando una carga de sólidos del 10% (p/p) con BAG y el LI [Emim]OAc a 120 °C y 3h.

Sacarificación enzimática

Se empleó amortiguador citrato 50 mM (pH 4.8) a 55 °C, 150 rpm durante 72h para llevar a cabo la sacarificación enzimática por lotes. Se utilizaron Ctec2 y HTec2 con una concentración de 30 FPU/g celulosa y 60 CBU/g celulosa, respectivamente.

Adsorción de celulasas

Al BAG sin tratar y pretratado se preformara a 4 °C en amortiguador citrato 50 mM (pH 4.8). Las isothermas de adsorción clásicas de Langmuir se aplicaron al BAG pretratado en solución.

La concentración de enzima se determinó mediante la determinación de proteínas con el método de Bradford utilizando suero de albumina bovino como estándar a 595 nm (3).

Caracterización química

Se analizó el contenido de celulosa, hemicelulosa, lignina y cenizas de las muestras sin tratar y pretratadas de acuerdo al procedimiento analítico del Laboratorio Nacional de Energía Renovable (NREL) de los Estados Unidos. Al finalizar todos los pretratamientos el BAG recuperado se lavó con agua destilada para remover el exceso de químico y subproductos que podrían inhibir a las enzimas en la hidrólisis subsecuente. Se determinó la concentración de azúcares con el método DNS

Resultados. Se obtendrán parámetros de adsorción de las muestras de BAG sin tratar y pretratadas, que se determinarán empleando regresión lineal de los datos de adsorción utilizando la expresión de Langmuir con el programa Polymath (4):

$$[CE] = \frac{\sigma[S_t][E_f]}{K_d + [E_f]}$$

donde [CE] es la cantidad de enzima adsorbida en mg/mL, [E_f] es la concentración de enzima libre en mg/mL, σ es la capacidad de adsorción máxima en mg/mg del sustrato, [S_t] es la concentración del sustrato en mg/mL, y K_d es la constante de equilibrio = [C][E]/[CE] en mg de enzima/mL, donde [C] es la concentración de sitios de unión libres en los sustratos en mg/mL y [E] y [E_f] son la concentración de enzima no adsorbida en el sustrato en mg/mL.

Agradecimiento. Se agradecen los apoyos brindados por la Universidad Autónoma de Nayarit.

Bibliografía.

- (1) Barragán B., Téllez Y., Laguna A. 2008. *Utilización de residuos Agroindustriales*, Vol. 2, Págs. 44-50.
- (2) Saucedo J., Castro A., Martínez M., Campos J. 2010. *Diseño de un bioproceso para la obtención de etanol anhidro a partir de Bagazo del Agave tequilana Weber*.
- (3) Bradford M. M. 1976. *A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein- Dye Binding*, Anal. Biochem. 72, 248-254.
- (4) Kumar R., Wyman, C.E. 2009. *Cellulase adsorption and relationship to features of corn stover solids produced by leading pretreatments*. Biotechnol. Bioeng. 103: 252-267