XVI Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería
21 al 26 de Junio de 2015 Guadalajara, Jalisco, México.
Guadalajara

EVALUACION DE UNA CEPA DE *Sheffersomyces stipitis* SOBREPRODUCTORA DE TREHALOSA EN LA PRODUCCION DE ETANOL

Lorena Pedraza[a], Diego Echeverría[a], Juan Carlos Núñez[a], Ramón Suárez[b]. a. Universidad Iberoamericana, Departamento de Ingeniería y C. Químicas, México, D.F., 01219. b Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Centro de Investigación en Biotecnología, Cuernavaca, Morelos, 62209. lorena.pedraza@uia.mx

Palabras clave: pentosas, trehalosa, etanol

Introducción. La utilización de residuos lignocelulpisicos para producir etanol se ha limitado al uso de la glucosa obtenida de la celulosa, por la capacidad metabólica de Saccharomyces cerevisiae, que es la levadura más usada en el proceso. Sin embargo no puede asimilar pentosas, que representan entre 25 a 28% de la biomasa y cuya fermentación incrementaría el rendimiento de etanol por tonelada de materia seca. Se han evaluado otras levaduras como *Sheffersomyces stipitis*, que produce etanol a partir de xilosa pero que tiene una resistencia al etanol mucho menor que *S. cerevisiae*. Por lo que en el presente trabajo la modificamos genéticamente para que sobreacumule el disacárido trehalosa, que es un osmoprotector y proporciona a los microorganismos tolerancia al estrés ocasionado por diversos factores.
El objetivo de este trabajo es evaluar el desempeño de la cepa modificada en la producción de etanol.

Metodología. Se modificó una cepa de *S. stipitits* con los genes *TPS1* y *TPS2* de *S. cerevisiae* [1] mediante la introducción del plásmido bifuncional pS4ScBIF, que posee un promotor inducible por cobre [2]. Esta se propagó en un medio sólido a partir de glucosa, YNB sin aminoácidos, adenina, histidina, triptófano y agar. La cepa se cultivó en medio líquido con xilosa al 6% como fuente de carbono y con los compuestos ya mencionados, a 130 rpm y 30°C, durante 72 h y se monitoreó para medir el crecimiento microbiano por turbidimetría y el consumo de xilosa y la producción de etanol por HPLC.

Resultados. En la figura 1 se observan el consumo de azúcares y la producción de etanol tanto para la levadura silvestre como para la modificada, que se cultivaron bajo las mismas condiciones, exceptuando la adición de uracilo, que se hace solamente en el caso de la cepa silvestre. Es notoria la diferencia en la utilización de xilosa, ya que la cepa modificada asimila más rápidamente este sustrato y prácticamente lo agota; en lo que respecta a la producción de etanol hay un cambio drástico en la cinética, puesto que se alcanza una concentración mayor con la cepa recombinante a un tiempo menor, aun y cuando aparentemente se metaboliza también después cuando la concentración de xilosa es baja, (>5 g/L). La cepa silvestre, por otro lado, presenta una tendencia diferente en cuanto a la fermentación y el valor mayor de la concentración de etanol se da hacia el final del proceso (70 h). Respecto a la trehalosa se cuantificó en las horas finales, para la cepa silvestre no se detecta y para la recombinante se tiene una cantidad de alrededor de 1 g/L.

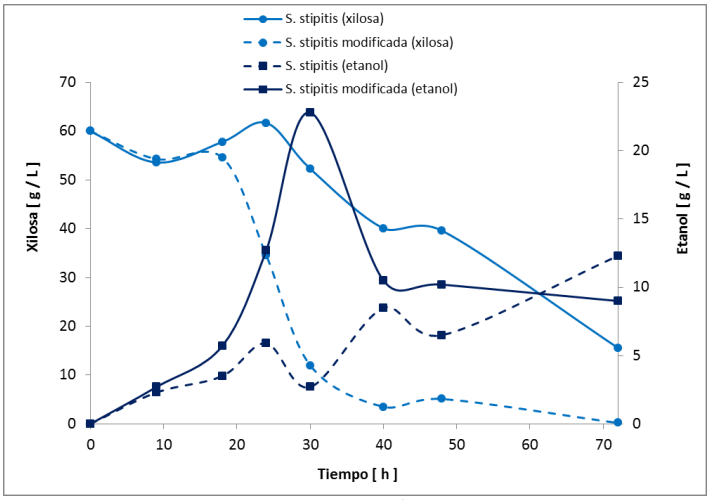

Fig. 1. Consumo de xilosa y producción de etanol con las cepas silvestre y modificada de *S. stipitis*

Conclusiones. La modificación de *S. stipitis* para la sobreproducción de trehalosa muestra que, independientemente de la resistencia que pueda adquirir ante factores de estrés, también tiene cambios en el metabolismo, tanto en el consumo de azúcares como en el patrón de producción de metabolitos, específicamente etanol. Aun y cuando se requiere un mayor estudio sobre las condiciones de operación el hecho de que llegue a un valor mayor de concentración, en menor tiempo, le da ventajas a esta cepa sobre la silvestre [3,4].

Agradecimiento. A FICSAC por el financiamiento del proyecto C132020.

Bibliografía.

1. Miranda J, Avonce N, Suárez R, Thevelein J, Van Dijck P, Iturriaga G. (2007). *Planta* 226:1411–1421.
2. Mascorro-Gallardo J, Covarrubias A, Gaxiola R (1996). *Gene*. 172:169–170
3. Papini M, Nookaew I, Uhlén M, Nielsen J (2012). *Microbial Cell Factories*. 11 (136) 1-16
4. Liang M, Damiani A,Peter H, Wang J. (2014). *ACS Sustainable Chemistry & Engineering.* 2, 38-48.