



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



OBTENCIÓN DE CEPAS MUTANTES DE *Cryptococcus humicola* CON CAPACIDAD FERMENTATIVA DE HIDROLIZADOS DE RESIDUOS LIGNOCELULÓSICOS PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOETANOL.

Ocampo Ortega Néstor Jesús, Ramos Valdivia Ana Carmela, Poggi-Varaldo Héctor Mario, Ponce Noyola María Teresa
Departamento de Biotecnología y Bioingeniería, CINVESTAV-IPN, Av. Instituto Politécnico Nacional No. 2508 Col. San Pedro Zacatenco, México. D.F. C.P. 07300. Tel 57473800 Ext. 4318. tponce@cinvestav.mx

Palabras clave: Bioetanol, Mutagenesis, Biocombustibles

Introducción. Por más de cuatro décadas la economía mexicana ha sido sostenida fuertemente por la explotación y procesamiento del petróleo, recurso natural no renovable. Este hecho plantea la necesidad de desarrollar nuevos procesos, basados en tecnologías, para generar la amplia variedad de energéticos y productos químicos que actualmente se obtienen del petróleo. Con el objetivo de aliviar la demanda de los mercados energéticos y mejorar la sustentabilidad de los recursos naturales, se ha impulsado el desarrollo de combustibles renovables como el etanol lignocelulósico. La producción de etanol y la búsqueda de nuevas cepas capaces de fermentar las mezclas de azúcares provenientes de la hidrólisis de material lignocelulósico, es necesaria para aprovechar al máximo este tipo de materiales como el bagazo de caña y el bagazo de agave.

El objetivo de este trabajo es obtener y caracterizar cepas mutantes de *Cryptococcus humicola* capaces de fermentar hidrolizados de residuos lignocelulósicos para la producción de etanol.

Metodología. *Cryptococcus humicola* se mutagenizó siguiendo la técnica de Alderberg et. al (1). Las colonias aisladas se hicieron crecer en un medio de cultivo con la siguiente composición en (g/L): glucosa 30; xilosa 30; manosa 12; arabinosa 12; galactosa 8; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 7, NH_2KPO_4 2 y bactopectona 1, en condiciones anaerobias. Se llevaron a cabo pruebas de fermentación siguiendo la técnica descrita para coliformes en la NOM-112-SSA1-1994. Se determinó la cantidad de etanol por cromatografía de gases con detector FID. Se evaluaron las mutantes candidatas en fermentadores de 300 ml para determinar las condiciones de fermentación, utilizando hidrolizado de bagazo de caña como fuente de carbono.

Resultados. De la mutagenesis, se obtuvieron 50 mutantes candidatas, de las cuales se seleccionaron 8 con mayor producción de etanol que la cepa silvestre, (Tabla 1). Las condiciones de fermentación por las mutantes 4, 8 y 13 en reactores fueron de 30 °C, 150 rpm, obteniéndose 4 g/L de etanol en la cepa 4, la cual tuvo casi 2 veces mayor producción que la cepa silvestre (Fig.1).

Tabla 1. Prueba de fermentación de las mutantes candidatas en medio similar al hidrolizado de lignocelulosa.

Cepas	EtOH (g/l)	Biomasa (g/l)	Azúcares Residuales (g/l)
Wt	11.21	1.35	34.11
M-2	15.40	1.35	36.52
M-3	17.88	1.21	44.23
M-4	20.93	1.06	41.12
M-7	17.73	1.17	38.49
M-8	20.62	1.53	35.38
M-13	20.40	1.61	36.87
M-15	15.89	1.06	29.64
M-17	19.94	1.06	34.22

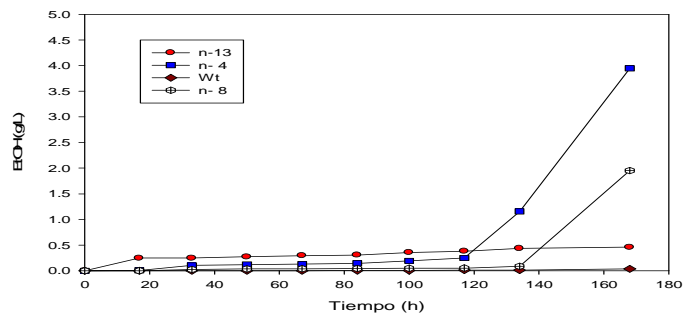


Fig. 1. Producción de etanol por las mutantes candidatas en hidrolizado de bagazo de caña

Conclusiones. El proceso mutagénico permitió incrementar aproximadamente 50 % la producción de etanol por *C. humicola* M4 creciendo en sacarificados de bagazo de caña.

Agradecimiento. Al CONACYT Proyecto 104333 Ciencia básica.

Bibliografía.

- 1.-Alderberg E.A, Mandel M. (1965), *Biochem. Biophys. Res. Commun* 18 : pag.788-195.
- 2.-Martinez A., Bolivar F., Gosset G. (2002) *Revista de la Universidad Nacional Autónoma de México*. Num. 617.
- 3.-Miller H. J. (1972). Unit III. Mutagenesis and the isolation of mutants. *Experiments in molecular genetics*. Harvard University and Université de Genève. Cold Spring Harbor Laboratory. Pag: 125-129.
- 4.-NOM-112-SSA1-1994.
- 5.-Wyman, C. E. Y Hinman, N. D. (1990), *Appl. Biochem. Biotechnol*, 24/25: p.735-753.