



# XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



## EVALUACIÓN DE PARAMETROS FÍSICOQUÍMICOS EN LA HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA DE BAGAZO DE CEBADA PARA LA OBTENCIÓN DE BIOETANOL

Aurea Gutiérrez Hernández, Mauricio A. Trujillo-Roldán

Unidad de Bioprocesos, Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM, C. P. 04510 México D. F.  
aurea.hoppus@gmail.com, maurotru@biomedicas.unam.mx

*Palabras clave: cebada, hidrólisis, enzimas*

**Introducción.** La producción de etanol combustible a partir de materiales lignocelulósicos parte del hecho de que sus tres principales componentes son celulosa (36-61%), hemilulosa (13-39%) y lignina (6-29%)<sup>[1]</sup>. Igualmente, el bagazo de cebada está constituido por celulosa (31-45%), hemicelulosa (27-38%) y lignina (14-19%)<sup>[2]</sup>. El bioetanol es entonces un sustituto prometedor para los combustibles tradicionales derivados del petróleo<sup>[3]</sup>. Para liberar monómeros de azúcar fermentable el material lignocelulósico es hidrolizado químicamente (ácidos, bases), enzimáticamente o por la combinación de ambos<sup>[4][5][6]</sup>. Las enzimas (celulasas) del hongo *T. reesei* pueden hidrolizar la biomasa a azúcares. El tamaño de partícula es un factor importante durante la hidrólisis, ya que incrementa la superficie de contacto para la degradación de material lignocelulósico a azúcares fermentables. En el caso de la fermentación se utiliza levadura comercial (*S. cerevisiae*) con alta tolerancia de etanol.

El objetivo del presente trabajo es determinar las mejores condiciones de hidrólisis enzimática del bagazo de cebada, para después continuar con la fermentación de los azúcares obtenidos durante la hidrólisis.

**Metodología.** Se utilizó bagazo de cebada de la planta piloto de cerveza de la Facultad de Química de la UNAM. Se realizaron hidrólisis enzimáticas con y sin pretratamiento ácido (HCl 1.2% y 2%), utilizando un mezcla enzimática comercial con actividad endoglucanasa y  $\beta$ -glucosidasa producida por una cepa recombinante de *T. reesei*. La enzima se utilizó a diferentes concentraciones (0.05, 0.05, 0.075, 0.1, 0.2 y 0.3 mL<sub>enz</sub>/g<sub>sust</sub>), al igual que la concentración de sustrato (10%, 20% y 42.8%). También, se evaluó el tamaño de partícula, por lo que el bagazo se molió y tamizó (malla 40/0.0165in, 25/0.0278in y 12/0.0661in). Otras condiciones también evaluadas fueron: pH (4.5 y 5), temperatura (50 y 55°C), agitación (50 y 100 rpm) y el tiempo se estandarizó a 120h para todas las cinéticas. Para la determinación de la cantidad de azúcares reductores totales se utilizó el método DNS<sup>[7]</sup>.

**Resultados.** En las primeras cinéticas se evaluó la importancia del pretratamiento ácido en el bagazo de cebada con carga de sustrato de 42.8%, a diferentes concentraciones de enzima (0.05, 0.1 y 0.2 mL<sub>enz</sub>/g<sub>sust</sub>). El rendimiento enzimático sin pretratamiento fue mayor que con pretratamiento ácido, al igual que la productividad. Basados en estos resultados, se continuó el trabajo únicamente con hidrólisis enzimática (Tabla 1). Cabe

destacar que el bagazo sólo lavado contiene una cantidad importante de azúcares reductores iniciales (30-40 g/L). En otras cinéticas se evaluó la importancia del ajuste inicial de pH y el ajuste en cada toma de muestra, resultando mejor el ajuste del pH al inicio de la hidrólisis. Se redujo la concentración de sustrato al 10% para ver el comportamiento de la enzima, ya que las hojuelas del bagazo no presentaban un cambio físico importante. Se realizaron cinéticas con el sustrato molido y tamizado, en una concentración al 10%. De acuerdo con los resultados obtenidos no hay diferencia entre los tres tamaños de partícula evaluados, pero si hay diferencia significativa con el material no molido. La comparación presentada en la tabla 1 se llevó a cabo usando material de malla 25, donde los mejores resultados se vieron con 0.3mL<sub>enz</sub>/g<sub>sust</sub>.

Características	CONDICIÓN			ART <sub>máx</sub> [mg/mL]	Y <sub>máx</sub> [g/g]
	Conc.	pH	E/S		
	[%]		[mL <sub>enz</sub> /g <sub>sust</sub> ]		
s/Pt <sub>ácido</sub>	42.80	-	0.075	104.80	0.245
c/Pt <sub>ácido</sub>	42.80	4.80	0.100	126.15	0.294
s/Pt <sub>ácido</sub>	20.00	-	0.100	63.85	0.319
s/Pt <sub>ácido</sub>	42.80	4.80	0.075	94.45	0.221
s/Pt <sub>ácido</sub>	20.00	4.80	0.050	54.80	0.274
T.P. 0.0278in	10.00	4.80	0.200	38.16	0.382
T.P. 0.0278in	10.00	4.80	0.300	39.71	0.397
T.P. Original	10.00	4.80	0.200	37.24	0.372

Tabla 1. Resumen de las cinéticas de hidrólisis enzimática de bagazo de cebada.

**Conclusiones.** Debido a un mayor rendimiento y productividad no es óptimo el pretratamiento ácido para la hidrólisis enzimática, y las condiciones hasta el momento con mejores resultados son: concentración de sustrato al 10% son: concentración de enzima 0.3 mL<sub>enz</sub>/g<sub>sust</sub> y tamaño de partícula 0.0278 in.

**Agradecimientos.** CONACyT 82533 y 103393, 137854, PAPIIT-UNAM. IN228509.

### Bibliografía.

- [1] Olsson L, Hahn-Hägerdal, B. (1996) *Enzyme Microb. Technol.* 18 (5), 312-331.
- [2] Rowell R, Han J, Bisen S. (1996) CRC Press, Boca Raton, pp. 7-427.
- [3] Weber C, Farwick A, Benisch F, Brat D, Dietz H, Subtil T, Boles E (2010) *Appl Microbiol Biotechnol* 87:1303-1315.
- [4] Gray KA, Zhao LS, Emptage M, (2006) *Bioethanol. Curr. Opin. Chem. Biol.* 10(2):141-146.
- [5] Wyman CE, Decker SR, Himmel ME, Brady JW, Skopec CE, Viikari L. (2004). 2nd ed. Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 995-1033.
- [6] Hendriks ATWM, Zeeman G (2009) *Bioresource Technol.* 100,10-18.
- [7] Miller G. (1959) *Anal. Chem.* 31(3):426-428.