



# XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



## HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA DE AGRORESIDUOS PARA EL APROVECHAMIENTO INTEGRAL DE LA BIOMASA EN EL PROCESO DE PRODUCCIÓN DE BIOETANOL LIGNOCELULÓSICO

López Simeon, Roxana; Espinosa Domínguez, Sergio; Hernández, Maribel; Campos-Terán, José; Reyes-Duarte Dolores, Departamento de Procesos y Tecnología UAM-Cuajimalpa, Artificios 40, 6° Piso, Col. Hidalgo, Delegación Álvaro Obregón, C.P. 01120, México D.F., [dreyes@correo.cua.uam.mx](mailto:dreyes@correo.cua.uam.mx)

*Palabras clave: residuos lignocelulósicos, enzimas, aprovechamiento integral*

**Introducción.** Dentro del proceso de obtención de etanol a partir de residuos lignocelulósicos, la hidrólisis enzimática es un paso fundamental para obtener azúcares utilizables en la fermentación. Sin embargo, este procedimiento biotecnológico también puede aplicarse al aprovechamiento integral de los agroresiduos con la finalidad de obtener productos de mayor valor agregado y como una alternativa verde y sustentable dentro de los procesos industriales. Las nuevas tecnologías están evolucionando este campo desde su uso como abono, la producción de energéticos (etanol, biodiesel), papel, y hasta su potencial uso como componentes para la formación de biopelículas novedosas.

En este trabajo se presentan resultados sobre el desarrollo de un coctel enzimático para la obtención de azúcares fermentables de un residuo agrícola (bagazo de caña) y la descripción de una nueva metodología que permita la evaluación reproducible y sistemática de la hidrólisis enzimática: películas lignocelulósicas modelo.

Las películas modelo son reproducibles, tienen composición química y morfología definidas. Por lo tanto, en nuestro caso son una herramienta que permite realizar estudios sistemáticos para el entendimiento de las interacciones enzima-sustrato<sup>(1)</sup>.

**Metodología.** El residuo lignocelulósico utilizado fue el bagazo de caña, el cual fue molido y tamizado por una apertura de malla de 70 mesh. Se incubó en agua miliQ (1/50 w/v) con 0.1-0.5% de las siguientes preparaciones enzimáticas: Viscozyme, Shearzyme, Pectinex Ultra, celulasa de *Aspergillus sp.*, celulasa de *Trichoderma reesei* (CTr), pectinasa de *Aspergillus aculeatus* (PAa). Se agitaron durante 5 horas a 45°C y se evaluaron los azúcares fermentables totales (AFT) por el método de azúcares reductores con ácido dinitrosalicílico (DNS). Se diseñó un coctel al que se le aplicó un análisis discriminante para analizar su efectividad y se determinaron otras mezclas a evaluar. Consecutivamente se combinaron las diferentes enzimas para obtener el coctel más eficiente de liberación de AFT; por último se midió el contenido de glucosa en cada una de las mezclas con la ayuda de un analizador bioquímico YSI y se compararon los resultados con los de AFT cuantificados con DNS.

Mediante la técnica de Langmuir, se generaron películas de celulosa, lignina y lignocelulósicas en la interfase aire-

agua en condiciones de temperatura controladas. Adicionalmente se caracterizaron *in-situ* por microscopía de ángulo de Brewster (BAM) y se transfirieron a superficies sólidas. Donde se evaluó su estabilidad frente distintas soluciones acuosas y salinas en una microbalanza de cuarzo con disipación (QCM).

**Resultados.** Se seleccionaron una mezcla de diferentes celulasas y pectinasas para el coctel original, hidrolizando el bagazo de caña en 0.83 g/L de AFT; posteriormente se efectuó un análisis discriminante obteniendo que la celulasa (CTr) hidroliza el 75% del total. Al realizar el análisis inverso haciendo mezclas específicas, se descubrió que la que la mezcla con CTr y pectinasa (PAa) es la más eficiente en la hidrólisis del bagazo de caña con una concentración de azúcares de 0.80 g/L. Al cuantificar específicamente la glucosa con YSI, se observa el mismo comportamiento en la cinética de hidrólisis que al medir los AFT por DNS.

Se prepararon películas de celulosa, lignina y lignocelulósicas con contenido de celulosa de 0 a 100%, p/p, las cuales presentaron una fase condensada sin colapso. Al realizar las isoterms de cada superficie, se observa que el área por molécula de las películas lignocelulósicas aumenta proporcionalmente a concentraciones mayores de celulosa llegando a un valor cercano de una película de celulosa pura ( $490 \pm 96 \text{ \AA}^2$  por molécula). Ambos biopolímeros mostraron ser miscibles en la interfase aire-agua.

**Conclusiones.** La mezcla celulasa CTr y pectinasa PAa, brinda el rendimiento de AFT y glucosa, confirmando el hecho que la sinergia de las enzimas hace los cocteles de degradación más eficientes, no solo para la obtención de glucosa, sino para acceder a sus polímeros.

La siguiente etapa es la evaluación-ensayo de los cocteles mas eficientes en superficies lignocelulósicas modelo para determinar las interacciones que favorecen la hidrólisis en el sistema de estudio.

**Agradecimiento.** Al proyecto "Biomasa: caso de la producción de etanol", financiado por el Acuerdo 13/2007 del Rector General de la UAM.

### Bibliografía.

1. Ahola, S., et al. (2008) Enzymatic hydrolysis of native cellulose nanofibrils and other cellulose model films: Effect of surface structure. *Langmuir* 24, 11592-11599.