

# EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE SACARIFICACIÓN DE UN SISTEMA CELULOLÍTICO HETEROGENEO.

Oscar García-Kirchner, Amelia R. Jiménez R., Karol K. García A., Samuel Dorantes A.

Departamento de Bioprocesos. Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología del IPN.

(UPIBI/IPN). Av. Acueducto S/N. Col. La Laguna. Ticomán, Zacatenco. México, D.F. C.P.

07340.ogarcia@aceiupibi.ipn.mx

Palabras clave: *cultivo mixto, celulasas, sacarificación.*

**Introducción** La conversión microbiana de la celulosa representa aún un área importante para la investigación biotecnológica ya que a pesar de la variedad de microorganismos que pueden utilizar la celulosa como fuente de carbono, sólo unos pocos producen las enzimas con suficiente actividad celulolítica para degradar completamente la celulosa cristalina hasta azúcares solubles (1). Esto se debe a que las celulasas son un sistema multienzimático que comprende cuando menos 3 tipos de actividades: las endoglucanasas, las exoglucanasas y las beta-glucosidasas que se encuentran presentes en diferentes cantidades dependiendo del microorganismo del cual provengan (2). Por lo mismo, es conveniente señalar que no todos los microorganismos celulolíticos aunque puedan aprovechar la celulosa tienen la capacidad de producir sistemas enzimáticos lo suficientemente activos para que se encuentren todos los componentes necesarios o bien se presenten en cantidades adecuadas para realizar la completa sacarificación de diferentes materiales lignocelulósicos que representan una fuente de azúcares solubles con una aplicación potencial biotecnológica.

De este modo, el objetivo de este trabajo consistió en evaluar y cuantificar la capacidad de sacarificación del papel filtro y el bagacillo de caña de azúcar nativo con los filtrados obtenidos del cultivo mixto de dos hongos celulolíticos.

**Metodología.** La producción de celulasas con las cepas de *Penicillium sp.* (CHTE-001) y *A. terreus* (CHTE-013) tanto en forma individual como en co-cultivo se llevó a cabo por fermentación sumergida en matraces erlenmeyer en un medio de cultivo con bagacillo de caña de azúcar nativo al 2% (w/v), agua de cocimiento de maíz, fosfatos, sulfato de amonio y tween 80 a un pH<sub>i</sub> de 5.0 durante 6 días con agitación a 180 rpm y una temperatura de 30° C.

Los filtrados de cultivo libres de células obtenidos después de la fermentación se utilizaron para sacarificar 50 mg. de papel filtro Whatman # 1 y bagacillo de caña de azúcar nativo en solución amortiguadora de citratos a un pH de 4.8 durante 1 hora de hidrólisis con agitación moderada a 50° C. Los

azúcares reductores producto de la hidrólisis fueron determinados por la técnica del DNS (3).

**Resultados y Discusión.** En la tabla 1 se presentan las unidades de actividad celulolítica y xilanolítica obtenidas con las cepas de *Penicillium sp.* (CHTE-001) y *A. terreus* (CHTE-013) después de 6 días de fermentación al cultivarlas en forma individual y en cultivo mixto en el medio con bagacillo de caña azúcar señalado en la Metodología. Estas cepas fueron seleccionadas con base a los diferentes perfiles de actividad celulolítica y xilanolítica que poseen así como por la capacidad de sus filtrados de cultivo para actuar en forma sinérgica (4).

Tabla 1. Unidades de actividad celulolítica y xilanolítica.

MICROORG.	ACTV. CELULOLÍTICA. U/mL.			ACTV. XILANOLÍTICA. U/mL.	PROT. EXT. mg/mL
	PF	CMC	p-NFDG	XILANOS (ABEDUL)	
<i>Penicillium sp.</i> CHTE-001	0.40	0.82	0.38	1.45	0.54
<i>A. terreus.</i> CHTE-013	0.38	1.28	0.90	3.96	0.60
<i>Penicillium sp.</i> y <i>A. terreus.</i>	0.55	1.41	1.05	5.02	1.14

Las unidades de actividad fueron calculadas de acuerdo a las indicaciones de IUPAC (5).

En la Fig. 1 se presenta el comportamiento de los filtrados de cultivo obtenidos de la fermentación para la sacarificación de un material lignocelulósico puro y uno nativo. Es posible apreciar una mayor capacidad de sacarificación por efecto del filtrado proveniente del cultivo mixto entre las dos cepas de hongos celulolíticos evaluadas.

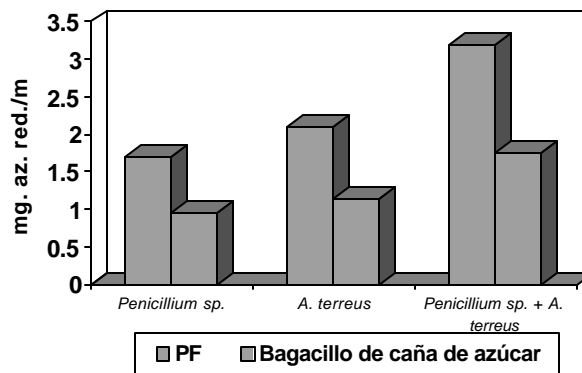


Fig 1.- Sacarificación de materiales lignocelulósicos con las celulasas de *Penicillium sp.* y *A. terreus*.

**Conclusiones.** Es posible obtener un incremento del 52.4% en la sacarificación de papel filtro y del 52.2% en la de bagacillo de caña de azúcar nativo con las celulasas obtenidas por cultivo mixto entre las cepas de ***Penicillium sp. CHTE-001*** y ***A. terreus CHTE-013***.

**Agradecimientos.** La colaboración y asesoría del Dr. Carlos Huitrón V. y de la QFB: Rosalba Pérez Villalva del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM de donde fueron proporcionadas las cepas utilizadas en este estudio.

A la CGPI/IPN por el financiamiento del proyecto clave 98098.

- Bibliografía.** 1).- Ryu, D. D. and Mandels, M. (1980). Enzyme Microb. Technol. 2, pp. 91-101.  
2).- Kofod, Dalboege (1995) Patent 5723328. Appl. No. 446-660. Mayo 26.  
3).- Miller, G.L. (1959). Anal. Chem. 31, 426-428.  
4).- García-Kirchner, O. and Huitrón, C. (1996) Applied Biochemistry and Biotechnology. Vol 57/58., pp. 253-265.  
5).- Ghose, T.K. (1987). Pure Appl. Chem. 59, 257-268.