

EFECTO DE pH EN LA PRODUCCIÓN DE CELULASAS DE *Trichoderma harzianum* ITV-22 PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOETANOL DE SEGUNDA GENERACIÓN (2G)

Ricardo Vargas Bello, Sandra Trinidad del Moral Ventura, María Inés Infanzón Rodríguez, Beatriz Torrestiana Sánchez, María Guadalupe Aguilar. Unidad de Investigación y Desarrollo de Alimentos, Instituto Tecnológico de Veracruz, Av. Miguel Ángel de Quevedo 2779, Formando Hogar, Veracruz, Veracruz, C.P. 91897, MÉXICO maría.au@veracruz.tecnm.mx

Palabras clave: Celulasas, Bioetanol 2G, Enzimas

Introducción. El bioetanol de segunda generación (2G) a partir de residuos lignocelulósicos ricos en celulosa y hemicelulosa es uno de los biocombustibles más prometedores. Sin embargo, los residuos se requieren hidrolizar mediante la acción concentrada de celulasas, lo cual eleva considerablemente los costos de producción de bioetanol ⁽¹⁾. Los microorganismos más utilizados para la producción de celulasas son los hongos filamentosos, entre los que destacan *Aspergillus niger*, *Trichoderma sp* y *Humicola insolens* ⁽²⁾. La producción de enzimas por hongos es afectada por distintos factores como: las fuentes de nitrógeno y pH.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del pH en la producción de celulasas de *T. harzianum* ITV-22.

Metodología.

T. harzianum ITV-22 forma parte del cepario del Laboratorio de Bioingeniería del Instituto Tecnológico de Veracruz. La fermentación sumergida se realizó usando un medio de cultivo compuesto por: 20 g/L de celulosa de bagazo de caña, KH₂PO₄ 5 g/L, Medio Vogels 1 mL/L, CaCl₂ 0.1 g/L MgSO₄ 7 H₂O 1.4 g/L y (NH₄)SO₄ 3, 6 y 9 g/L. Las fermentaciones fueron llevadas a cabo a 30°C, 200 rpm por 168 h, donde la variable de respuesta fue la actividad celulasa en papel filtro (FPasa), endoglucanasa (CMCasa) y Beta-glucosidasa (BGL).

La actividad CMCasa fue cuantificada por la metodología reportada por Ordaz Díaz, *et al.*, 2016. La actividad FPasa fue cuantificado de acuerdo a Ghose T.K. (1987) ⁽³⁾. La actividad β-glucosidasa (BGL) fue cuantificada siguiendo la metodología reportada por Singhanian *et al.* (2011) ⁽⁴⁾.

Resultados. Los resultados mostraron que las variaciones de pH tienen un efecto significativo en la actividad enzimática al igual que la fuente de nitrógeno. A concentraciones bajas de nitrógeno (3g/L), la actividad celulasa es menor en comparación a concentraciones más altas (6g/L). Por otro lado, a pH 4.5 y una concentración de 6 g/L de sulfato de amonio, la actividad de CMCasa (5.9 U/mL) y FPasa (5.5 U/mL) tuvieron su mayor actividad a las 48 h en fermentación sumergida.

En contraste, a pH 6.5 se favoreció la actividad BGL (16.93 U/mL) al término del bioproceso (144 h), mientras la mayor actividad FPasa (7 U/mL) se obtuvo a las 72 h. Sohail *et al.*, 2009⁽⁵⁾ reportaron que las variaciones en pH y temperatura pueden beneficiar la producción de enzimas celulasas en cepas de *Aspergillus niger*. y *Trichoderma sp.* obteniendo actividades de endoglucanasa y β-glucosidasa de 1.95 y 2.76 U/mL respectivamente estando a pH de 4 y una temperatura de 35 °C. En comparación con este trabajo las mejores actividades de CMCasa y β-glucosidasa producen 3.05 y 6.1 veces mas actividad a pH de 6.5. Si el objetivo es producir β-glucosidasa, se recomienda utilizar un pH de 6.5 durante 144-168 hrs, en cambio, para la producción de FPasa y CMCasa se recomienda utilizar un pH de 4.5 durante 72 h.

Conclusiones. Las variaciones de pH tienen un efecto significativo en la secreción de *T. harzianum* ITV-22.

Agradecimiento. Agradecimientos a la agencia CONACYT por fomentar la investigación con su apoyo económico al proyecto COVEICYDET CP 1111 13/04/23.

Bibliografía.

- (1) Maitan, P. Visser, M. Monteze, V. Enzymatic hydrolysis of lignocellulosic biomass: converting food waste in valuable products. Elsevier, (2015) 1: 44-49.
- (2) Hansen, H. Lübeck, M. Frisvad, J. Lübeck, P. Andersen, B. Production of cellulolytic enzymes from ascomycetes: Comparison of solid state and submerged fermentation. Process Biochemistry (2015): 1359-5113
- (3) Ghose, T. K. "Measurement of cellulase activities". Pure and applied Chemistry, 59(1987), 257-268. Singhanian, R. Sukumaran, R. Patel, A.
- (4) Larroche, C. Pandey, A. Advancement and comparative profiles in the production technologies using solid-state and submerged fermentation for microbial cellulases. Enzyme and Microbial Technology, (2011) 127: 500-507
- (5) Sohail M. Siddiqui R. Ahmad A. y Khan A. "Cellulase production from *Aspergillus niger* MS82: effect of temperature and pH" Department of microbiology, University of Karachi (2009) Volumen 25, 1871-6784.