

# INMOVILIZACIÓN DE CÉLULAS DE *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* EN ASERRIN DE PINO PARA LA PRODUCCIÓN DE ETANOL

Edgar Alberto Gamboa-Terrones<sup>a</sup>, Javier López-Miranda<sup>a</sup>, Juan Antonio Rojas-Contreras<sup>a</sup>, Nicolás Oscar Soto-Cruz<sup>a</sup>, Jesús Páez-Lerma<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Departamento de ingenierías química y bioquímica, Tecnológico nacional de México-Instituto Tecnológico de Durango, Felipe pescador 1830 Ote. Col. Nueva Vizcaya Durango, Durango, Dgo., 34080, México.  
[jlopez@itdurango.edu.mx](mailto:jlopez@itdurango.edu.mx)

Palabras clave: *inmovilización celular, saccharomyces cerevisiae, bioetanol.*

## Resumen

La crisis energética hace necesaria la sustitución de combustibles fósiles por biocombustibles. Por ello, trabajar en el diseño de nuevas tecnologías es importante para el aprovechamiento de la biomasa lignocelulósica, a fin de que los procesos de producción de biocombustibles sean más eficientes. El objetivo del presente trabajo consiste en desarrollar un proceso de inmovilización de *saccharomyces cerevisiae* en un soporte lignocelulósico (Aserrín de pino) en reactores de lecho empacado, utilizando Sacarosa, Azúcar comercial y dextrosa monohidratada para su evaluación.

## Introducción

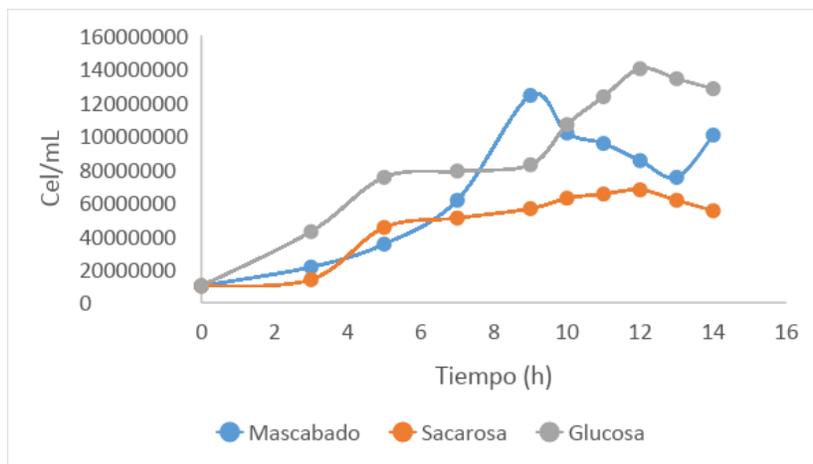
Desde hace algún tiempo ha aumentado el interés en la inmovilización celular para la producción de metabolitos de interés, debido principalmente a las numerosas ventajas que ofrece, entre las que destacan: una mayor productividad de la fermentación, el incremento en la viabilidad de las células inmovilizadas, la posibilidad de realizar el procesamiento continuo y un incremento en la estabilidad del sistema de producción (1). En estos sistemas el diseño del biorreactor, la elección del soporte y los microorganismos que serán inmovilizados son los factores más importantes para la aplicación de las tecnologías de inmovilización en la producción de etanol. Un aspecto importante de la fermentación continua es la alta eficiencia volumétrica, que generalmente se obtiene por el aumento de concentración de células de levadura en el reactor en comparación a los sistemas por lotes tradicionales (2). Estos sistemas ofrecen importantes ventajas, tales como: mayores rendimientos de conversión, tasas de fermentación más rápidas, un producto mejorado, pérdidas reducidas de productos y ventajas ambientales (3).

## Metodología

Se evaluó la capacidad de la cepa *Saccharomyces cerevisiae* ITD00185 aislada del proceso de producción de mezcal para consumir distintas fuentes de carbono (Sacarosa, Mascabado y jarabe de glucosa). La columna se empaco con aserrín de pino hasta un 80% de su volumen. Se utilizó un medio mineral constituido por sulfato de amonio, fosfato ácido de potasio, sulfato de magnesio heptahidratado, cloruro de sodio, y extracto de levadura, adicionado con la fuente de carbono. Se realizaron cinéticas de crecimiento, utilizando una concentración inicial de la fuente de carbono de 40g/L. Las columnas se inocularon con una concentración de levaduras de  $1 \times 10^8$  cel/mL. Se tomaron muestras cada 3 horas durante periodos de 36 a 48 horas y se hicieron conteos celulares por el método de Neubauer. La concentración de etanol se determinó en un cromatógrafo de líquidos de alta resolución (HPLC), equipado con una columna Aminex HPX-87H con un flujo de 0.6 mL/min a una temperatura de columna de 50°C.

## Resultados

En la figura 1 se muestra la cinética del consumo de sustrato respecto del crecimiento celular.



**Fig 1.** Crecimiento celular *Saccharomyces cerevisiae* ITD00185

en sacarosa, mascabado y glucosa.

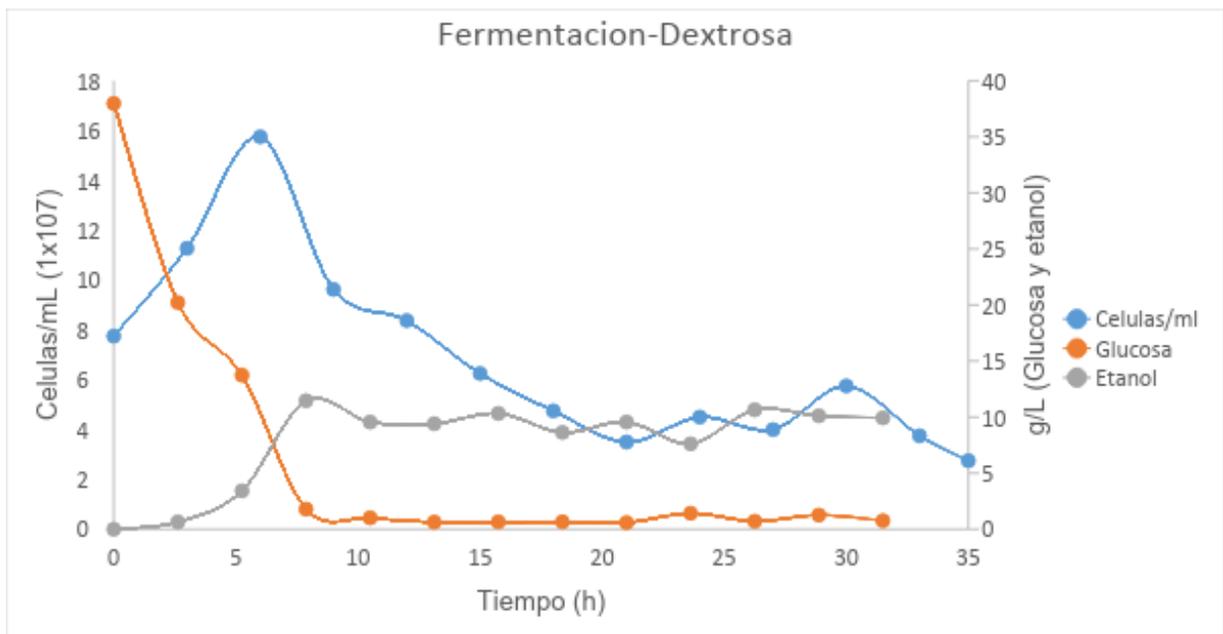
En esta se observa un mayor crecimiento con la glucosa comercial, por lo que, se decidió utilizarla como sustrato para evaluar el funcionamiento del sistema de producción. En la tabla 1 se muestran los parámetros utilizados en la fermentación y en la figura 2 la cinética de fermentación, la cual se llevó a cabo durante un periodo de 36 horas empleando un rango de temperaturas que oscila entre los 28 y 30°C.

**Tabla 1.** Parámetros establecidos y valores resultantes en inmovilización celular.

Inmovilización	1	2	3	4
Tamaño de partícula	2-4 mm	5-9 mm	2-4 mm	5-7 mm
Carga inicial:	1X10 <sup>8</sup> Cel/mL	1X10 <sup>8</sup> Cel/mL	1X10 <sup>8</sup> Cel/mL	1X10 <sup>8</sup> Cel/mL
-Volumen de medio:	700 mL	800 mL	750 mL	900 mL
-Células totales:	7X10 <sup>10</sup> Cel/mL	8X10 <sup>10</sup> Cel/mL	7.5x10 <sup>10</sup> Cel/mL	9x10 <sup>10</sup> Cel/mL

-Tiempo de reposo de inóculo en columna:	2 horas	2 horas	30 min	30 min
Carga celular en el líquido de drenado	$7.25 \times 10^7$ Cel/mL	$7 \times 10^7$ Cel/mL	$6.63 \times 10^7$ Cel/mL	$7.75 \times 10^7$ Cel/mL
-Volumen de líquido drenado:	335 mL	450 mL	600 mL	620 mL
-Número de células en líquido drenado:	$2.43 \times 10^{10}$ Cel	$3.15 \times 10^{10}$ Cel	$3.98 \times 10^{10}$ Cel	$4.81 \times 10^{10}$ Cel
Número de células inmovilizadas en columna:	$4.57 \times 10^{10}$ Cel	$4.85 \times 10^{10}$ Cel	$3.52 \times 10^{10}$ Cel	$4.19 \times 10^{10}$ Cel
-Volumen de líquido inmovilizado:	365 mL	350 mL	150 mL	180 mL
% células inmovilizadas	65.28%	60.62%	46.93%	46.55%

Los datos obtenidos muestran que se logró un porcentaje de inmovilización mayor en aserrín de pino de 5-9 mm de diámetro de partículas que en aserrín de pino con un diámetro de partícula de 2 a 4 mm (65.28% de células inmovilizadas), con un tiempo de reposo de 2 horas.



**Fig 2.** Fermentación alcohólica de *saccharomyces cerevisiae* con dextrosa, inmovilizada en aserrín de pino

Una vez realizada la inmovilización se utilizó una concentración de 40 g/L de glucosa para realizar la fermentación, utilizando un flujo continuo de 22.2 mL/h durante un periodo de 36 horas. Los resultados muestran que se alcanzó el equilibrio en la producción de etanol después de 18 h de iniciada la fermentación, también se aprecia un consumo casi total del sustrato, en tanto que la concentración celular se mantuvo constante a una concentración de  $5 \times 10^7$  Cel/mL. La producción de etanol se mantuvo en un rango entre 9 y 12 g/Lh.

## Conclusiones

El uso de soportes orgánicos para la inmovilización de células de levadura es una tecnología que permite realizar la fermentación continua con una utilización eficiente del sustrato, manteniendo la viabilidad celular de la cepa y una producción constante de etanol. En la inmovilización de células de *Saccharomyces cerevisiae* en aserrín de pino destacan dos factores: el tamaño de partícula y el tiempo de reposo de las células dentro del reactor, encontrándose como un óptimo el uso de un tamaño de partícula de 2-4 mm con un tiempo de reposo de 2 horas

## Bibliografía

1. Margaritis y Merchant, 1984, "Advances in Ethanol Production Using Immobilized Cell Systems, Crit. Rev. Biotechnol. 2, 339–393.
2. Verbelen et al. (2006), Immobilized yeast cell systems for continuous fermentation applications. Biotechnol Lett 28:1515–1525.
3. Kourkoutas *et al.* (2004), Immobilization technologies and support materials suitable in alcohol beverages production: a review. Food Microbiology. 21. 377–397