

Hidrólisis química y enzimática de lirio acuático para la obtención de azúcares fermentables

Andrea Edith Oropeza González¹, Evelyn Romero Borbón¹, Yolanda González García², Jesús Antonio Córdova-López^{1,*}

¹ Laboratorio de Fermentaciones y Biocatálisis, Departamento de Química, Universidad de Guadalajara, Guadalajara, Jalisco, México.

² Departamento de Madera, Celulosa y Papel, Universidad de Guadalajara, Zapopan, Jalisco, México.

* Autor de correspondencia: jesuscordovaudg@yahoo.com.mx

Energías Renovables (Biocombustibles).

Palabras clave: sacarificación; lirio acuático; fermentación sólida; hongos filamentosos

Introducción. Los tratamientos eficientes y económicamente viables para degradar materiales lignocelulósicos hasta la obtención de oligosacáridos y monosacáridos, involucran procedimientos físicos, químicos y/o biológicos (Capolupo y Faraco, 2016). Los azúcares obtenidos sirven de base para la fabricación de materiales útiles como el bioetanol, en el caso de azúcares fermentables o fibra dietética, para el de los oligosacáridos. Por otra parte, el lirio acuático (*Eichhornia crassipes*) es una planta que invade los cuerpos de agua dulce, cuya rápida propagación favorece el desarrollo de vectores de enfermedades, y compite y elimina especies de plantas y animales acuáticos nativos (Sun et al, 2020). En este trabajo se aislaron hongos filamentosos a partir de lirio acuático en descomposición y se probaron diferentes condiciones de pretratamiento termo-químico, a fin de facilitar la sacarificación enzimática del lirio pretratado, aplicando extractos enzimáticos de dos cepas de hongos, seleccionadas por su alta producción de enzimas celulolíticas, para obtener monosacáridos.

Materiales y Métodos. Las cepas de hongos filamentosos se aislaron a partir de fragmentos de plantas de lirio acuático en descomposición, cultivadas sobre un medio nutritivo a base de lirio fresco, sales minerales y agar. Las cepas aisladas fueron cultivadas por fermentación sólida, utilizando lirio seco como soporte e inductor y un medio líquido de sales minerales y oligoelementos. Los extractos se obtuvieron con buffer citratos 0.1 M pH 5.3 y la actividad enzimática se cuantificó utilizando xilano y carboximetilcelulosa como sustratos y el método de azúcares reductores (AR) (Miller, 1959). La actividad enzimática se reportó como Unidades/gramo de fermento seco.

Para el pretratamiento termo-químico del lirio acuático, se ensayaron tres relaciones de carga de lirio seco y solución ácida: 50, 20, 10 mg sólido seco/mL de H₂SO₄ al 3%; tres tamaños de partícula: 0.15, 0.85, 2.36 mm y cuatro tiempos de reacción: 10, 20, 40, 60 min. Las hidrólisis fueron realizadas en autoclave a 121°C, seguidas de una despresurización súbita. Las reacciones fueron neutralizadas con NaOH 5 N. La fracción líquida fue analizada para determinar los AR liberados durante el proceso.

Para la sacarificación enzimática, 50 mg de lirio pre-tratado, molido y seco (70°C, 48h) fue mezclado con 1 mL de extracto enzimático. La hidrólisis se realizó a 50°C y 140 rpm durante 24 y 48 h. La reacción fue detenida con 200 µl de NaOH 2 N. Los AR fueron determinados en el sobrenadante de la reacción.

Resultados. Se aislaron 76 cepas de hongos filamentosos; de las cuales, se eligieron dos (ML7R y 1-S3) por su alta capacidad productora de enzimas celulasas y hemicelulasas, para llevar a cabo la sacarificación del lirio. El tratamiento termoquímico se realizó a fin de hidrolizar parcialmente la hemicelulosa y disminuir la cristalinidad de la celulosa. El mejor resultado se obtuvo, al utilizar una carga de 50 mg de sólido seco/mL de H₂SO₄, un tamaño de partícula de 0.15 mm y 20 min de reacción, alcanzando un rendimiento de 437.47 mg AR/g lirio seco (Figura 1).

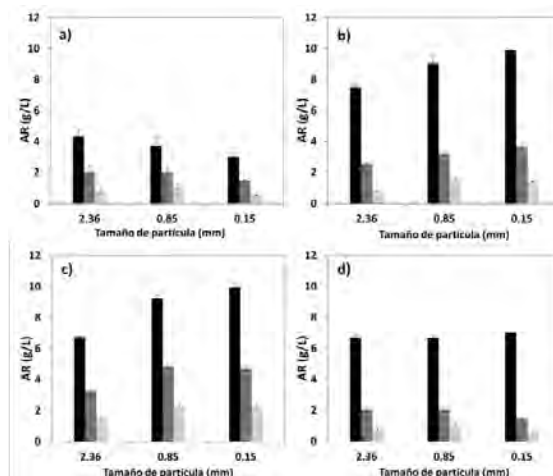


Figura 1. AR liberados después del tratamiento ácido-térmico a la biomasa del lirio acuático. Tiempos de reacción (min): 10 (a), 20 (b), 40 (c), 60 (d). Relaciones de carga de lirio seco (mg sólido seco) y solución ácida (mL H₂SO₄ al 3%): 50 (■), 20 (■), 10 (■) y Tamaños de partícula (mm): 0.15, 0.85, 2.36. Los datos corresponden al promedio y DE de tres ensayos.

Los extractos enzimáticos de las cepas ML7R y 1-S3 fueron aplicados al lirio pretratado. En la Tabla 1, se muestran los rendimientos totales alcanzados, que corresponden a un 95 y 82% de sacarificación total de la holocelulosa (celulosa + hemicelulosa) en la biomasa del lirio acuático (65% p/p).

Tabla 1. Sacarificación enzimática (SE) del lirio acuático pretratado.

Cepa	Tiempo de hidrólisis(h)	Rendimiento de AR SE (mg AR/gSSP)	Rendimiento Total de AR (mg AR/gSSP)
ML7R	24	115.13 ± 6.2	552.6 ± 6.02
	48	183.63 ± 6.02	621.1 ± 6.02
1-S3	24	51.47 ± 3.01	489.14 ± 10.5
	48	96.02 ± 5.2	533.49 ± 11.2

gSSP: gramos de sólido seco pretratado. El rendimiento total corresponde a la suma de AR de la SE y del pretratamiento termo-químico. Los datos representan el promedio y la DE de seis ensayos.

Conclusiones. De las 76 cepas de hongos aisladas de lirio acuático, dos de ellas mostraron una mayor producción de enzimas celulasas y xilanasas. Las condiciones óptimas del pretratamiento termoquímico fueron una carga de 50mg de sólido seco/mL de H₂SO₄, tamaño de partícula 0.15mm y 20min de reacción. La sacarificación enzimática de la biomasa pretratada del lirio, empleando los extractos producidos en este trabajo, logró un 95 y 82% en el rendimiento total de liberación de AR en 48h de reacción.

Bibliografía.

- Capolupo, L., Faraco, V. (2016). Green methods of lignocellulose pretreatment for biorefinery development. *Appl Microbiol Biotechnol.* 100:9451–9467.
- Miller, G. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal.Chem.* 31:426-428.
- Sun, D., Onyianta, A.J., O'Rourke, D. et al. (2020). A process for deriving high quality cellulose nanofibrils from water hyacinth invasive species. *Cellulose.* 27:3727–3740.