



INSTITUTO POLITÉCNICO
NACIONAL



CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN BIOTECNOLOGÍA
APLICADA

**“AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE
BACTERIAS TERMOTOLERANTES, CON
ACTIVIDAD B-GLUCOSIDASA A PARTIR DE
COMPOSTA DE RESIDUOS DE LA
INDUSTRIA CAÑERA”**

Tesis para obtener el grado de Maestro
en Ciencias con orientación en
Tecnología Aplicada

PRESENTA

Carla de la Cerna Hernández

ASESORES

M. C. Miguel Ángel Plascencia Espinosa

Dr. Sergio R. Trejo Estrada



RESUMEN

La celulosa es una de las principales materias primas disponibles para la producción de biocombustibles. La viabilidad técnica de su uso depende principalmente al empleo de celulasas para su hidrólisis. La mayoría de las celulasas comerciales son de origen fungal y causan la acumulación de celobiosa y otros oligosacáridos (celodextrinas). Estos azúcares son difíciles de asimilar por los microorganismos comúnmente utilizados para la conversión de azúcares a etanol. El presente estudio se encuentra orientado hacia el aislamiento y selección de cepas bacterianas que presenten actividad β -glucosidasa, así como a la producción de celodextrinas a partir de celulosa comercial. Bacilos gram-positivos termotolerantes fueron extraídos de composta de biopilas en fase termofílica de la Industria Cañera y de un suelo conservado del Parque Nacional la Malinche. Cultivos líquidos fueron realizados con medio mínimo con celobiosa como única fuente de carbono, estos cultivos se incubaron a 80°C por 48h, posteriormente diluciones seriadas se realizaron en medio sólido selectivo. Setenta y cinco cepas diferentes fueron aisladas y llevadas a una selección secundaria donde el medio selectivo consistió en celotriosas, celotetrosas y celopentaosas, como única fuente de carbono, obtenidas por medio de hidrólisis enzimática y ácida de celulosa microcristalina (Avicel); del ensayo anterior, se seleccionaron 9 cepas para realizar la cuantificación de su actividad enzimática, posteriormente 3 de ellas se sometieron a un test de identificación.



ABSTRACT

Cellulose is one of the main raw materials available for the production of biofuels. The technical viability of its use depends mainly to the employ of cellulases for its hydrolysis. The majority of the commercial cellulases are from fungal origin and causes to the accumulation of cellobiose and other oligosaccharides (celodextrines). These sugars are difficult to assimilate by the microorganisms commonly used for the sugar conversion to ethanol. The present study is oriented towards the isolation and selection of bacterial stocks that present β -glucosidase activity and the production of celodextrines from commercial cellulose. Thermotolerants gram-positive bacilli were extracted of compost of biopiles in thermophilic phase of the sugar cane Industry and soil conserved of the National Park "La Malinche". Minimum liquid cultures were formulate with cellobiose as sole carbon source, these cultures were incubated to 80°C for 48h, later dilutions were place into selective solid minimum media. Seventy five different strains were isolated and taken to a secondary selection where the selective media consisted of celotrioses, celotetroses and celopentaoses, as sole carbon source, obtained by means of enzymatic and acid hydrolysis of microcrystalline cellulose (Avicel); of the previous test, 9 strains were selected to realize the quantification of their enzymatic activity, later 3 of the last test were put into a test of identification.