

FERMENTACION DE LA PAJA DE CAÑA PARA PRODUCCION DE ETANOL POR TRICHODERMA VIRIDE C-9 Y SACCHAROMYCES BAYANUS

A. Herrera, A. Castillo y G. Casado

Departamento de Microbiología y Virología, Facultad de Biología, Universidad de La Habana, Cuba

Recibido: 19 de diciembre de 1986

Recibido: 18 de diciembre de 1987

ABSTRACT. *Trichoderma viride* C-9 and *T. reesei* QM-9414 were grown on leaves of sugar cane pretreated with alkali or by gamma radiation at 30 and 100 kGy. It was observed an increasing accumulation of reducing sugars in the medio at different concentrations of the carbon source (leaves of sugar cane). CMC-ase activity: Cx, was than FP-ase activity: Cx + Cl. Mixed culture of *T. viride* C-9 and *Saccharomyces bayanus* at pH 5.0; aeration 0,4 vvm, agitation 300 r/min, temperature 27 to 31 °C in 5 L of culture medium, yielded 3 g/L of ethanol from leaves of sugar cane with alkaline pretreatment.

RESUMEN. Se estudió el comportamiento de *Trichoderma viride* C-9 y *T. reesei* QM-9414, crecidas en presencia de paja de caña pretratada con sosa o irradiada a 30 y 100 kGy. Se observó que la acumulación de azúcares reductores en los cultivos fue claramente diferenciable en relación con la concentración inicial de la paja irradiada; no así en el resto de las variantes. Los valores de actividad enzimática celulolítica Cx (endoglucanasa), fueron generalmente mayores a los obtenidos en la actividad celulolítica Cx + Cl (endo y exoglucanasas). El cultivo mixto de *T. viride* C-9 y *Saccharomyces bayanus*, a pH 5.0; aeración 0,4 vvm, agitación 300 r/min, temperatura 27 a 31 °C, en volumen de 5 L, produjo etanol hasta una concentración de 3 g/L a partir de la paja de caña.

INTRODUCCION

Los sustratos celulósicos constituyen una fuente renovable de carbono en el planeta, los cuales pueden ser biotransformables en biomasa proteica bacteriana,^{1,2} y de hongos filamentosos.^{3,4} Paredes y col.⁵ utilizaron como sustrato papel periódico para la obtención de proteína unicelular por cultivos mixtos de bacilos. También se describe la acción hidrolítica de celulasas de *Penicillium variable*, sobre bagazo pretratado con sosa.⁶ Righelato y col.⁷ han trabajado en la fermentación fúngica de materiales celulósicos siendo la especie *Trichoderma viride* la más descrita.⁸⁻¹⁰

La fermentación de los materiales celulósicos está dirigida, en los últimos años, a la producción de etanol como una de las principales sustancias a obtener.¹¹⁻¹³ Wilke y col.¹⁴ han evaluado las materias primas y desarrollo de procesos para obtener azúcar y etanol a partir de materiales celulósicos. Por otra parte, Blanco y col.¹⁵ informaron pequeñas producciones de etanol mediante el acoplamiento de la sacarificación y fermentación del bagazo de caña; mientras que Watson y Anziska,¹⁶ estudiaron hasta escala piloto la conversión de materiales celulósicos hasta glucosa y etanol con *T. reesei* QM-9414. Wu y col.¹⁷ obtuvieron hasta 60 g/L de etanol con *Paeicilomyces* sp. NFI, pero utilizando celulosa pura. Si se considera el potencial de producción de materiales celulósicos,¹⁸ resulta de interés el estudio de biotecnologías que permitan transformar dichos sustratos.

El presente trabajo aborda la fermentación de la paja de caña, sometida previamente a tratamiento químico, o físico, la que sirve como fuente de carbono a cultivos de *Trichoderma viride* C-9 y *T. reesei* QM-9414; así como su posible utilización en cultivo mixto de *T. viride* C-9 y *S. bayanus*.

MATERIALES Y METODOS

Microorganismos. *Trichoderma viride* C-9 y *T. reesei* QM-9414, se emplearon para la fermentación de la paja de caña, y *Saccharomyces bayanus* en cultivo mixto. Los hongos filamentosos fueron sembrados en medio agar-papa-glucosa, incubados durante 7 d a 30 °C y conservada en refrigeración a 4 °C. La levadura fue sembrada en medio extracto de malta-agar (Oxoid), incubándose 3 d a 30 °C y conservada en refrigeración a 4 °C. En todos los experimentos se prepararon inóculos jóvenes de dichos microorganismos, inoculándose una suspensión de esporas de 10⁵ a 10⁷/mL.

Material celulósico. Se empleó paja de caña, seca y molida, la cual fue pretratada con sosa,¹⁹ o sometida a irradiación gamma en una fuente de Co⁶⁰, con una potencia de dosis de 0,425 kGy/s. Las dosis de radiaciones gamma fueron de 30 a 100 kGy. En algunas experiencias el material celulósico sólo se empleó seco y molido. Como celulosa se empleó papel de filtro Whatman #1 y como un derivado de celulosa a la carboximetilcelulosa, con grado de sustitución 0,7 a 0,8 (BDH).

Medios de cultivo. Los medios de cultivo se prepararon en frascos de 500 mL con 200 mL del medio descrito por Mandels y colaboradores.⁹ Los experimentos en fermentador se realizaron con un volumen de 5 L y el mismo medio de cultivo. En los experimentos con paja de caña con y sin pretratamiento, se emplearon concentraciones de 2,4 y 6 % en los cultivos.

Condiciones de cultivo. Los medios dispensados se agitaron en zaranda giratoria a 120 r/min, durante 6 a 11 d, según la experiencia. El cultivo en fermentador se desarrolló en condiciones de 300 r/min, con una aeración de 0,4 vvm. El pH inicial de todos los

medios de cultivo fue de 5,0, siendo regulado en el fermentador y controlada la espuma. Todos los experimentos se efectuaron con un control de la temperatura de 28 a 30 °C. De acuerdo a las características de la experiencia, se realizaron observaciones al microscopio óptico, de los cultivos microbianos.

Determinaciones químicas y bioquímicas. Para la determinación de los azúcares reductores se empleó el método del ácido 3-5 dinitrosalicílico.²⁰ Los carbohidratos totales solubles se realizaron por el método del fenol-sulfúrico.²¹ La glucosa se cuantificó por el método de la glucosa-oxidasa,²² y el etanol por el método de Widmarck. La determinación de endoglucanasa (CMC-asa) se realizó por el método de Gupta y col.,¹⁰ modificado por Abín y col.,²³ mientras que la actividad endo y exoglucanasa (PF-asa), por el de Gupta y col.¹⁰ Todas las determinaciones celulolíticas se realizaron con el sobrenadante de los cultivos centrifugados.

RESULTADOS Y DISCUSION

Características de los cultivos de *T. viride* C-9 y *T. viride* QM-9414, en presencia de paja de caña con y sin pretratamiento

En las experiencias efectuadas con *T. viride* C-9 y *T. reesei* QM-9414, con paja pretratada con sosa, y utilizada en los cultivos como única fuente de carbono, se apreció la producción de azúcares reductores (Figuras 1 y 2), poniendo de manifiesto una mayor acumulación según aumentó la concentración de la paja en los cultivos. Una característica de estos perfiles es la presencia de altibajas en las concentraciones de azúcares reductores durante el tiempo de fermentación en zaranda, los cuales contrastan con la relativa uniformidad que presentan los perfiles de acumulación de azúcares reductores cuando se emplea paja irradiada con rayos gamma (Figuras de la 3 a la 6).

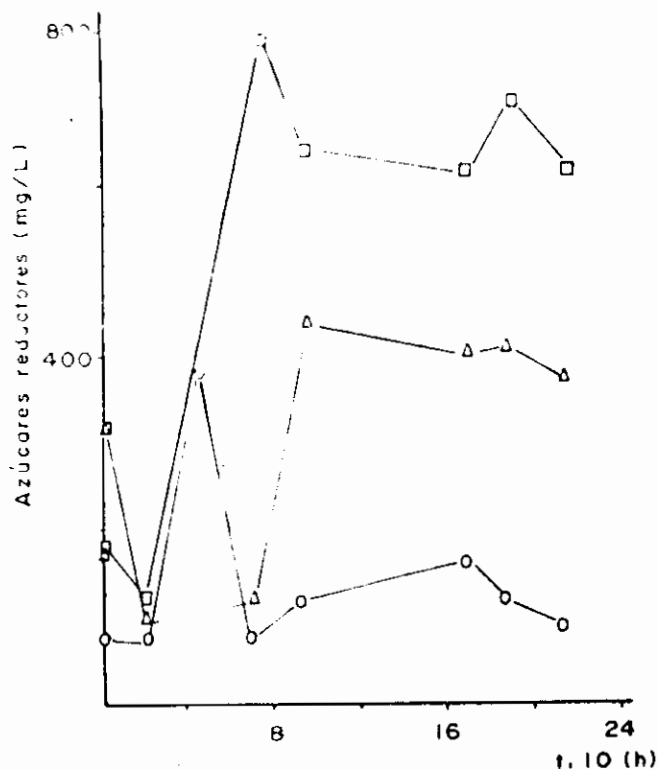


Fig. 1. Acumulación de azúcares reductores en cultivos de *T. viride* C-9, en presencia de paja de caña pretratada con sosa, a las concentraciones del 2 % (1), 4 % (2) y 6 % (3)

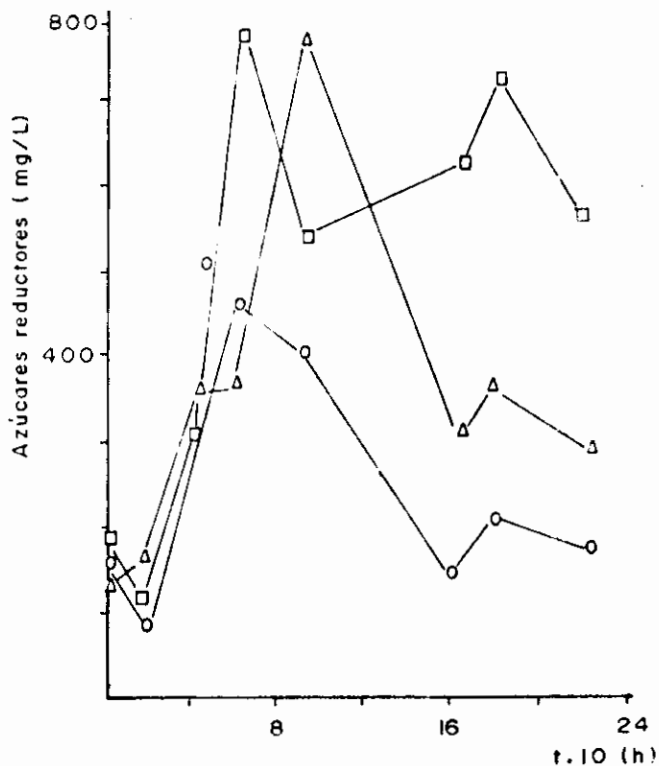


Fig. 2. Acumulación de azúcares reductores en cultivos de *T. reesei* QM-9414, en presencia de paja de caña pretratada con sosa, a las concentraciones del 2 % (1), 4 % (2) y 6 % (3)

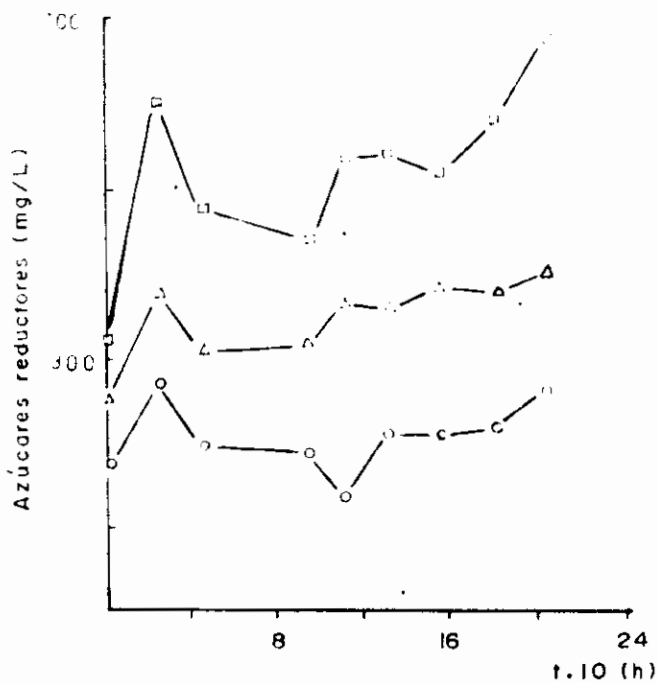


Fig. 3. Acumulación de azúcares reductores en cultivos de *T. viride* C-9, en presencia de paja de caña pretratada con irradiación gama (30 kGy), a las concentraciones del 2 % (1), 4 % (2) y 6 % (3)

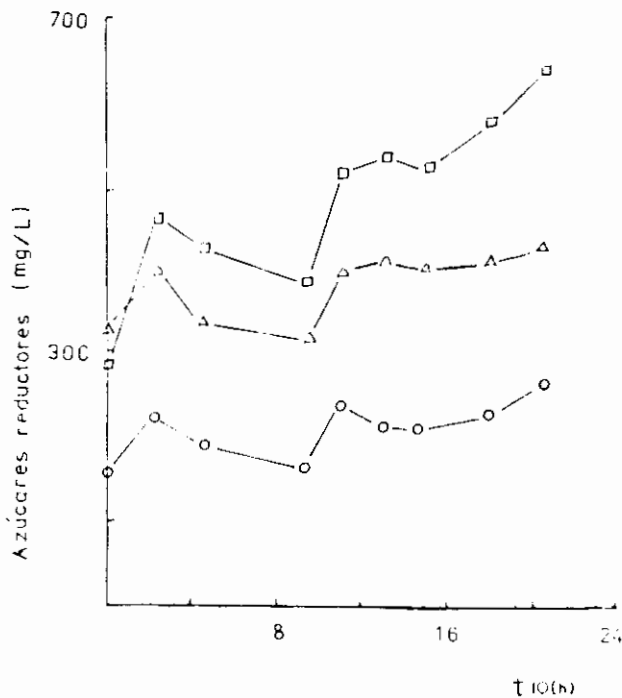


Fig. 4. Acumulación de azúcares reductores en cultivos de *T. reesei* QM-9414, en presencia de paja de caña pretratada con irradiación gamma (30 kGy), a las concentraciones del 2% (1); 4% (2) y 6% (3)

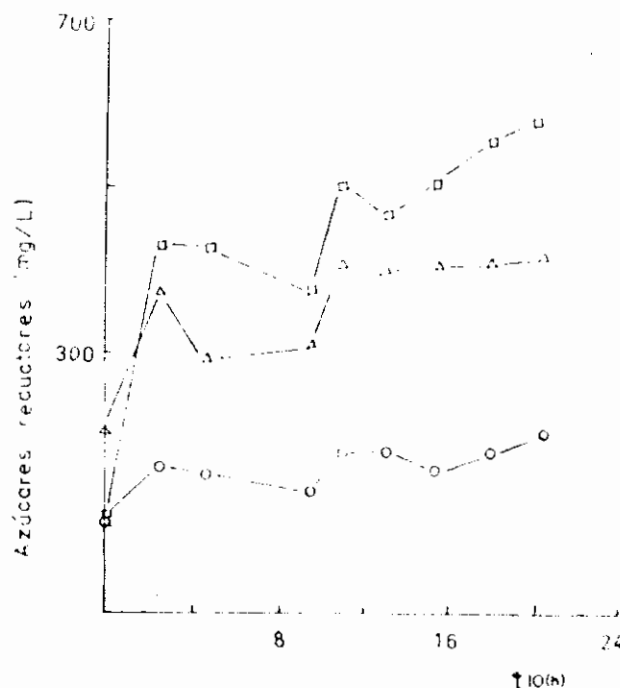


Fig. 6. Acumulación de azúcares reductores en cultivos de *T. reesei* QM-9414, en presencia de paja pretratada con irradiación gamma (100 kGy), a las concentraciones del 2% (1), 4% (2) y 6% (3)

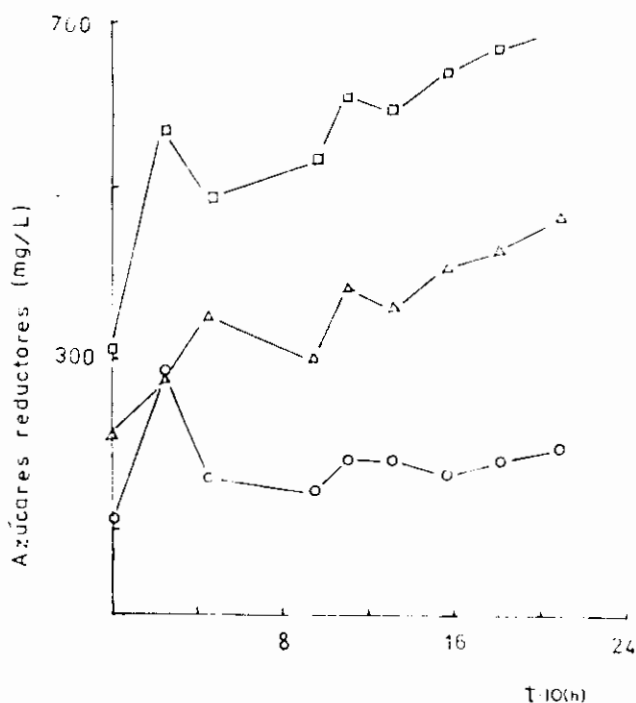


Fig. 5. Acumulación de azúcares reductores en cultivos de *T. viride* C-9, en presencia de paja de caña pretratada con irradiación gamma (100 kGy), a las concentraciones del 2% (1),

En todas las experiencias efectuadas se mantuvo esta característica en cultivos con paja al 2,4 y 6%, tanto con *T. viride* C-9 como con *T. reesei* QM-9414. Estos resultados pudieron atribuirse al hecho de que la irradiación gamma es más accesible al tejido vegetal de una manera uniforme como pretratamiento, debido al poder

de penetración de ellos, si se compara con el tratamiento con sosa, lo cual no implica que el tratamiento con rayos gamma sea mejor, sino que las celulasas encuentran un sustrato más homogéneo para su actividad sobre él.

La variación observada en los azúcares reductores se debe a dos fenómenos contrapuestos; por un lado, la actividad celolítica de las enzimas que produce los azúcares reductores y, por otra parte, el consumo de éstos por el propio cultivo, de modo que dicha acumulación en el medio de cultivo es el resultado de ambos fenómenos contrapuestos. Hasta ahora, el pretratamiento del material celulósico con sosa ofrece mejores resultados, pero es costoso. La irradiación gamma pudiera ser una opción, si lograra la misma eficiencia que la sosa. La radiación gamma pudiera propiciar, al parecer, un ataque más uniforme de las celulasas a los paquetes de fibras lignocelulósicas, lo cual puede explicar su relativa uniformidad en los perfiles observados, sin embargo, el comportamiento de la actividad enzimática y crecimiento microbiano no ha presentado diferencias notables.²⁴ Al parecer, las dosis de 30 y 100 kGy empleadas, tienen el mismo efecto desde el punto de vista de la preparación de las fibras lignocelulósicas para el ataque enzimático celolítico, en las condiciones ensayadas. Se ha informado que el paso limitante es la hidrólisis de las celulasas, en cultivo de *T. reesei* QM-9414 y *S. cerevisiae*.²⁵

Durante los experimentos efectuados con paja se detectó poca cantidad de glucosa en los medios de cultivo, y ninguna en algunos casos; no obstante ser el método de la glucosa-oxidasa específico y sensible, lo cual hace suponer que existe una rápida utilización de dicha hexosa por el microorganismo. *T. viride* C-9 y *T. reesei* QM-9414 producen la hidrólisis del material celulósico de la paja, hasta glucosa, la cual utilizan sin permitir un exceso de glucosa en el medio, posiblemente debido a una baja actividad de la β -glucosidasa.^{7,8,12} La presencia de glucosa y celobiosa se ha detectado en cultivos con paja de caña, pero a bajas concentraciones así como en cultivos con papel de filtro y con carboximetilcelulosa.²⁴

Actividad enzimática celulolítica de cultivos de *T. viride* C-9 y *T. reesei* QM-9414 en paja de caña

La actividad enzimática PF-asa de *T. viride* C-9 y *T. reesei* QM-9414 en presencia de celulosa y carboximetilcelulosa, puede apreciarse en la Tabla I. Estos valores son bajos si se comparan con la actividad CMC-asa (Tabla II). La adición de glucosa a la concentración de 100 mg/L, se realizó para favorecer la germinación de las esporas, pues a la concentración tan baja que se suministró se consumió totalmente. No obstante, se ha descrito que la glucosa grado reactivo aún puede contener impurezas de un potente inductor de las celulasas, como es la soforosa,²⁸ por lo que no hay que perder de vista esta consideración. Por otra parte, los valores de actividad PF-asa fueron bajos, lo cual, unido a su no detección en algunas horas, pudiera pensarse en una adsorción de las enzimas por la celulosa, fenómeno que ha sido descrito en *Trichoderma*.²⁹

TABLA I

Actividad celulolítica PF-asa durante la fermentación de celulosa, por *T. viride* C-9 y *T. reesei* QM-9414*

Cepas	Fuente celulolítica	Tiempo de fermentación (h)							
		43,4	66,6	90,8	114,6	166,1	188,3	211,3	235,1
C-9	PF + g	1,94	8,70	3,50	0,00	0,00	2,19	3,30	5,20
	PF	8,70	0,00	0,00	1,23	3,98	2,61	6,65	6,17
	CMC + g	30,00	30,00	10,00	20,00	20,00	6,17	8,98	8,93
	CMC	20,00	8,72	8,63	10,00	20,00	2,37	7,91	10,00
	PF + g	1,31	3,30	0,00	0,00	0,00	2,85	2,81	3,78
	PF	2,57	20,00	10,00	0,00	0,00	0,00	3,39	2,19
QM-9414	CMC + g	4,82	0,00	8,10	10,00	20,00	40,00	20,00	20,00
	CMC	7,76	20,00	0,00	20,00	20,00	4,78	20,00	20,00

PF + g Papel de filtro como fuente de carbono, más 100 mg/L de glucosa

CMC + g Carboximetilcelulosa como fuente de carbono, más 100 mg/L de glucosa

*Las unidades se expresan en 10⁻³ U/mL

En las Tablas III y IV se aprecia una mayor actividad celulolítica en los materiales lignocelulósicos no tratados con sosa, con respecto a los tratados. Esto se ha comprobado experimentalmente en repeticiones efectuadas. No obstante, el crecimiento fúngico es mucho más limitado en los materiales sin tratamiento, por la cambiada barrera que ofrece la lignina a la degradación celulolítica. Es posible que el material celulósico no tratado, al ser más rico y heterogéneo, proporcione sustancias que favorezcan la producción de celulasas, o bien que éstas sean menos adsorbidas por dicho material, en relación con el pretratado con sosa. A menores dosis de irradiación gamma, se obtiene un resultado parecido, por lo que puede pensarse que estas altas dosis de irradiación pueden destruir sustancias que actuarían propiciando una mayor producción de celulasas y, en este sentido, este efecto se parecería al tratamiento con sosa, que destruiría o lixiviaría tales compuestos. Las variaciones observadas en las diferentes concentraciones de paja de caña, con y sin tratamiento, se presentan también en celulosa pura.²⁴ En estos cultivos no se pudo establecer ninguna relación entre la concentración de la fuente de carbono en los cultivos, y la actividad PF-asa y CMC-asa, pero sí en cuanto a si la fuente de carbono fue o no tratada con sosa. Los valores de actividad celulolítica en cultivos con paja irradiada a 30 kGy fueron mayores que los obtenidos en los cultivos crecidos con paja irradiada a 100 kGy, no se observaron diferencias entre las concentraciones de paja tratada (Tablas V y VI).

TABLA II

Actividad celulolítica CMC-asa durante la fermentación de celulosa, por *T. viride* C-9 y *T. reesei* QM-9414*

Cepa	Fuente celulolítica	Tiempo de fermentación (h)							
		43,4	66,6	90,8	144,6	166,1	188,3	211,3	235,1
C-9	PF + g	10,00	10,00	10,00	30,00	50,00	30,00	90,00	100,00
	PF	20,00	5,84	130,00	120,00	150,00	70,00	150,00	130,00
	CMC + g	200,00	100,00	200,00	200,00	100,00	100,00	230,00	190,00
	CMC	140,00	6,70	200,00	200,00	200,00	80,00	220,00	170,00
	PF + g	10,00	200,00	20,00	40,00	40,00	10,00	60,00	40,00
	PF	70,00	10,00	3,96	30,00	0,00	10,00	40,00	20,00
QM-9414	CMC + g	10,00	200,00	230,00	400,00	300,00	200,00	400,00	310,00
	CMC	2,44	220,00	160,00	300,00	210,00	200,00	300,00	350,00

PF + g Papel de filtro como fuente de carbono, más 100 mg/L de glucosa

CMC + g Carboximetilcelulosa como fuente de carbono, más 100 mg/L de glucosa

*Las unidades se expresan en 10⁻³ U/mL

TABLA III

Actividad celulolítica PF-asa durante la fermentación de la paja de la caña, con y sin pretratamiento alcalino, por *T. viride* C-9 y *T. reesei* QM-9414*

Cepas	Paja de caña (%)	Pretratamiento	Tiempo de fermentación (h)							
			45,2	69,0	93,1	142,0	166,0	188,0	212,5	
C-9	2	-	80,00	100,00	100,00	100,00	40,00	84,00	50,00	
	4	-	50,00	80,00	90,00	90,00	60,00	60,00	40,00	
	6	-	6,94	10,00	90,00	80,00	40,00	20,00	30,00	
C-9	2	alcalino	20,00	1,31	4,70	6,94	10,00	2,85	1,94	
	4	alcalino	40,00	10,00	7,11	4,09	2,81	10,00	40,00	
	6	alcalino	20,00	8,78	5,24	8,13	1,70	0,00	0,00	
QM-9414	2	-	40,00	90,00	90,00	110,00	70,00	110,00	60,00	
	4	-	3,35	20,00	60,00	30,00	30,00	30,00	20,00	
	6	-	20,00	30,00	70,00	140,00	80,00	130,00	60,00	
QM-9414	2	alcalino	0,00	6,65	8,39	0,00	0,63	1,74	6,11	
	4	alcalino	4,02	4,46	5,67	6,41	3,89	0,00	0,00	
	6	alcalino	7,37	10,00	10,00	10,00	0,00	0,00	0,00	

*Las unidades se expresan en 10⁻³ U/mL

Características generales de cocultivo con *T. viride* C-9 y *S. bayanus* en la fermentación de la paja de caña

La fermentación de la paja, en cocultivo de *T. viride* C-9 y *S. bayanus*, produjo un 0,3 % de etanol, a partir de un 4 % del sustrato celulósico. Saddler y col.³⁰ obtuvieron hasta 2,9 g/L (aproximadamente 0,3 %), con un cocultivo, después de 6 d de fermentación.

TABLA IV

Actividad celulolítica CMC-asa durante la fermentación de la paja de caña, con y sin pretratamiento alcalino, por *T. viride* C-9 y *T. reesei* QM-9414^a

Cepa	Paja de caña (%)	Pretratamiento	Tiempo de fermentación (h)						
			45,2	69,0	93,1	142,0	166,0	188,0	212,5
C-9	2	-	400,00	500,00	500,00	610,00	200,00	300,00	200,00
	4	-	410,00	610,00	530,00	400,00	210,00	310,00	80,00
	6	-	210,00	70,00	600,00	500,00	200,00	310,00	200,00
C-9	2	alcalino	500,00	50,00	60,00	60,00	30,00	20,00	10,00
	4	alcalino	820,00	100,00	120,00	100,00	100,00	120,00	9,41
	6	alcalino	120,00	50,00	120,00	130,00	40,00	50,00	6,70
QM-9414	2	-	610,00	430,00	500,00	610,00	200,00	610,00	50,00
	4	-	160,00	300,00	350,00	400,00	200,00	610,00	200,00
	6	-	200,00	320,00	520,00	530,00	210,00	500,00	440,00
QM-9414	2	alcalino	50,00	230,00	200,00	80,00	30,00	200,00	100,00
	4	alcalino	40,00	40,00	200,00	40,00	10,00	70,00	10,00
	6	alcalino	50,00	40,00	230,00	200,00	50,00	200,00	111,00

^aLas unidades se expresan en 10⁻³ U/mL

TABLA V

Actividad celulolítica PF-asa durante la fermentación de la paja de caña, pretratada con irradiación gamma, por *T. viride* C-9 y *T. reesei* QM-9414^a

Cepa	Paja de caña (%)	Pretratamiento (kGy)	Tiempo de fermentación (h)						
			45,0	94,0	110,4	132,5	156,1	180,4	204,3
C-9	2	30	40,00	30,00	10,00	20,00	10,00	20,00	10,00
	4	30	30,00	60,00	40,00	80,00	40,00	60,00	30,00
	6	30	10,00	90,00	90,00	90,00	100,00	84,00	100,00
C-9	2	100	4,50	6,15	7,67	8,39	6,93	20,00	8,63
	4	100	3,98	6,41	20,00	40,00	7,43	30,00	9,11
	6	100	5,91	10,00	3,11	10,00	8,93	20,00	5,67
QM-9414	2	30	5,91	30,00	30,00	30,00	30,00	30,00	30,00
	4	30	3,30	40,00	40,00	40,00	40,00	30,00	40,00
	6	30	6,17	60,00	40,00	50,00	50,00	50,00	60,00
QM-9414	2	100	2,13	9,41	3,11	2,13	10,00	3,98	5,19
	4	100	1,06	4,46	6,89	7,13	20,00	20,00	40,00
	6	100	3,30	10,00	5,43	7,85	7,85	20,00	20,00

^aLas unidades se expresan en 10⁻³ U/mL

Aunque la producción de etanol fue baja, a ésta debe sumarse una cantidad equivalente a 0,2 % colectada a la salida del fermentador durante la aeración del cultivo. Si bien la fermentación se prolongó más de 500 h, no se observaron cambios de interés en cuanto a la producción de etanol; pero sí en la actividad celulolítica PF-asa, que comenzó a disminuir apreciablemente después de las 450 h (Fig. 7), lo que pudiera explicarse por el efecto de adsorción.²⁹ Los valores de actividad CMC-asa se mantuvieron inferiores, pero relativamente estables, mientras que la actividad PF-asa permaneció relativamente alta. No obstante, debe tenerse presente que, si bien en ambos casos, se expresa la actividad en U/mL, lo cierto es que los valores de la escala para PF-asa son inferiores a los de CMC-asa. Los fenómenos que ocurren durante la degradación de los

materiales celulósicos son complejos, sobre todo cuando el tiempo de fermentación se prolonga y comienzan a actuar fenómenos de lisis celular. En cuanto a las concentraciones de glucosa propiamente, sus valores nunca fueron superiores a 12,9 mg/L, y el etanol producido no alcanza tampoco concentraciones que puedan inhibir las celulasas de *Trichoderma*, lo cual está demostrado.

TABLA VI

Actividad celulolítica CMC-asa durante la fermentación de la paja de la caña, pretratada con irradiación gamma, por *T. viride* C-9 y *T. reesei* QM-9419^a

Cepa	Paja de caña (%)	Pretratamiento (kGy)	Tiempo de fermentación (h)						
			45,0	94,3	110,4	132,5	156,1	180,4	204,3
C-9	2	30	500,00	370,00	40,00	300,00	400,00	400,00	110,00
	4	30	430,00	430,00	600,00	430,00	500,00	400,00	340,00
	6	30	310,00	500,00	540,00	430,00	240,00	530,00	310,00
C-9	2	100	100,00	100,00	150,00	200,00	120,00	120,00	100,00
	4	100	140,00	100,00	100,00	110,00	130,00	160,00	100,00
	6	100	170,00	140,00	200,00	200,00	300,00	300,00	330,00
QM-9414	2	30	110,00	240,00	40,00	300,00	340,00	400,00	110,00
	4	30	120,00	330,00	400,00	320,00	410,00	400,00	200,00
	6	30	100,00	340,00	450,00	400,00	510,00	460,00	140,00
QM-9414	2	100	20,00	60,00	150,00	160,00	100,00	30,00	10,00
	4	100	70,00	100,00	200,00	200,00	200,00	200,00	250,00
	6	100	50,00	50,00	100,00	120,00	200,00	230,00	100,00

^aLas unidades se expresan en 10⁻³ U/mL

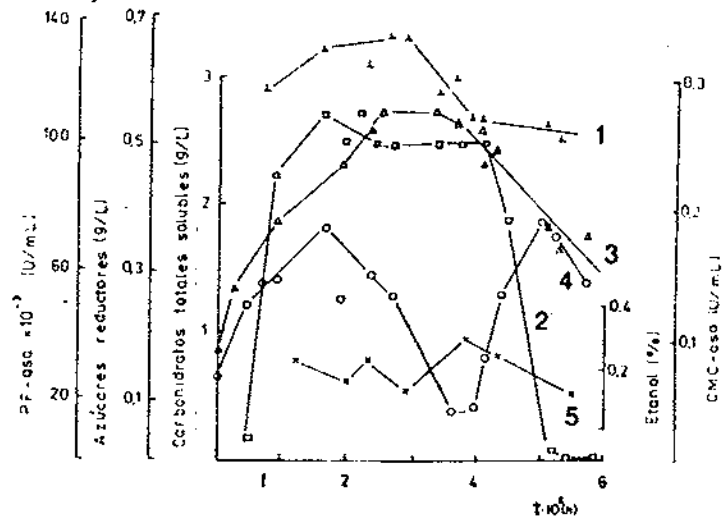


Fig. 7. Perfil fermentativo de un cocultivo de *T. viride* C-9 y *S. bayanus*, en presencia de paja de caña pretratada con sosa, al 4 % en fermentador (5 L) y condiciones controladas de aeración, pH, agitación y temperatura: (1) actividad PF-asa, (2) actividad CMC-asa, (3) azúcares reductores, (4) carbohidratos totales solubles, (5) etanol

CONCLUSIONES

Los cultivos presentaron mayor actividad celulolítica CMC-asa que PF-asa, lo que sugiere una mayor actividad relativa de las endoglucanasas.

El cocultivo de *T. viride* C-9 y *S. bayanus*, a pH 5,0; aeración de 0,4 vvm, agitación de 300 r/min, y temperatura de 28 a 30 °C, produjo etanol hasta una concentración de 3 g/L a partir de la paja de caña.

Durante la fermentación de la paja de caña se producen carbohidratos solubles por acción de las celulasas, las cuales alcanzan unos pocos gramos por litro, mientras que apenas se detecta glucosa en el medio, lo cual evidencia su rápida utilización por el cocultivo, por lo que no debe haber ningún tipo de inhibición de las celulasas.

RECONOCIMIENTOS

Este trabajo se ha realizado con la ayuda de la Fundación Internacional para las Ciencias (IFS), radicado en Estocolmo, Suecia, dentro del marco del proyecto E/687.

BIBLIOGRAFIA

1. Dunlap C.E. Proteins from waste cellulose by chemical-microbial processing. Ph.D. Thesis, Louisiana State University, USA, 1969.
2. Srinivasan V.R. and Callihan C.D. Nutritive protein from cellulose. Louisiana State University Foundation, USA p-3 637 095, August, 1969.
3. Updegraff D.M. *Biotechnol. Bioeng.*, 13, 17, 1971.
4. Ross L.W. and Updegraff D.M. *Biotechnol. Bioeng.*, 13, 99, 1971.
5. Paredes O., Medosa J.E. and Camargo E. *Experientia*, 30, 205, 1974.
6. García D.V., Ogawa T., Shinmya A. and Etnatsu T. *J. Ferment. Technol.*, 52, 378, 1974.
7. Righelato R.C., Emrie F.K. and Vitos A.J. *Resource, Recovery, Conservation*, 1, 257, 1976.
8. Mandels M., Parrish F.W. and Reese E.T. *J. Bacteriol.*, 83, 400, 1962.

9. Mandels M., Sternberg D. and Andreotti E. SITRA Symposium on Enzymatic Hydrolysis of Cellulose, Helsinki, 1975.
10. Gupta J.K., Das N.B. and Gupta Y.P. *Agr. Biol. Chem.*, 36, 1961, 1972.
11. Herrera A. *ATAC*, 40, 22, 1981.
12. Ghose T.K. *Biotechnol. Bioeng.*, 26, 377, 1984.
13. Purchase B.S. *Proc. 57th. Ann. Congr. S. African Sugar Techn. Assoc.*, 75, 1983.
14. Wilke C.R., Yang R.D. and Sciamanna A.F. *Biotechnol. Bioeng.*, 23, 163, 1981.
15. Bianco S., Gemarra A., Cuevas C. and Ellenrieder G. *Biotechnology Letters*, 4, 661, 1982.
16. Watson T.G. and Anzleka K.G. *South African Food Review*, 9, 102, 1982.
17. Wu J.F., Lastick S.M. and Updegraff D.M. *Nature*, 321, 887, 1986.
18. FAO: Agricultural Services Bulletin. Agricultural Residues, Rome, 1979.
19. Osman H.G., Herrera A., Casado G., Llama E. y Bell A. *Ciencias, Serie 5, No. 9*, 1972.
20. Sumner J.R. and Somers G.F. *Laboratory Experiments In Biological Chemistry*, Academic Press Inc., New York, 1944.
21. Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Roberts P.A. and Smith F. *Anal. Chem.*, 28, 350, 1956.
22. Hugget A. and Nixon D.A. *Biochemical J.*, 66, 121, 1957.
23. Abin L., Guerra G. y Herrera A. *Revista de Ciencias Biológicas*, 14, 331, 1983.
24. Castillo A. Estudio de la degradación de materiales celulósicos de la caña por cultivos de *T. viride* (reesei) C-9 y QM-9414. Trabajo de Diploma, Universidad de La Habana, 1985.
25. Savarese J.J. and Young S.D. *Biotechnol. Bioeng.*, 20, 1 291, 1978.
26. Shewale J.G. *Internat. J. Biochem.*, 14, 435, 1982.
27. Berghem M. and Pettersson J. *Eur. J. Biochem.*, 46, 295, 1974.
28. Mandels M., Parrish F.W. and Reese E.T. *J. Bacteriol.*, 83, 400, 1962.
29. Hung B.R. Estudio bioquímico microbiológico de la obtención de celulasas en el hongo *T. viride* a partir de materiales lignocelulósicos. Tesis para optar por el grado de C.Dr., Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Ciudad de La Habana, Cuba, 1987.
30. Sadier J.N., Chan M.K.H. and Louis-Seize G. *Biotechnol. Lett.*, 3, 321, 1981.

Se edita cuatrimestralmente en idioma español, con un resumen en inglés.

Los objetivos de esta publicación científica son los de propiciar la divulgación de los avances en este campo que incluyen temas directamente relacionados con producción, purificación y aplicación de los interferones, Ingeniería Genética, producción de anticuerpos monoclonales, inmunología, química y bioquímica de ADN y de proteínas, producción y caracterización de biomoléculas, fermentaciones, producción de vacunas y nuevos métodos de diagnósticos, así como el intercambio entre los investigadores de distintos países, por lo que la revista tiene un carácter internacional.

Asimismo, se incluyen otras selecciones como cartas al editor, preguntas, comentarios sobre actividades y eventos científicos importantes.

El costo anual de esta revista es el equivalente a US\$ 15,00 cuyo pago se realiza mediante transferencia bancaria. Sociedad Iberoamericana para investigación sobre Interferón. Cuenta Bancaria 1-247-5680, Banco Nacional de Cuba, La Habana Cuba pudiendo realizarse este pago en cualquier moneda libremente convertible, excepto en US dólares.

Para las suscripciones nacionales realizarse el pago de \$15,00 mediante giro postal a:

Revista Interferón y Biotecnología,
6072, Habana, Cuba



REVISTA INTERFERON

Y

BIOTECNOLOGIA

