

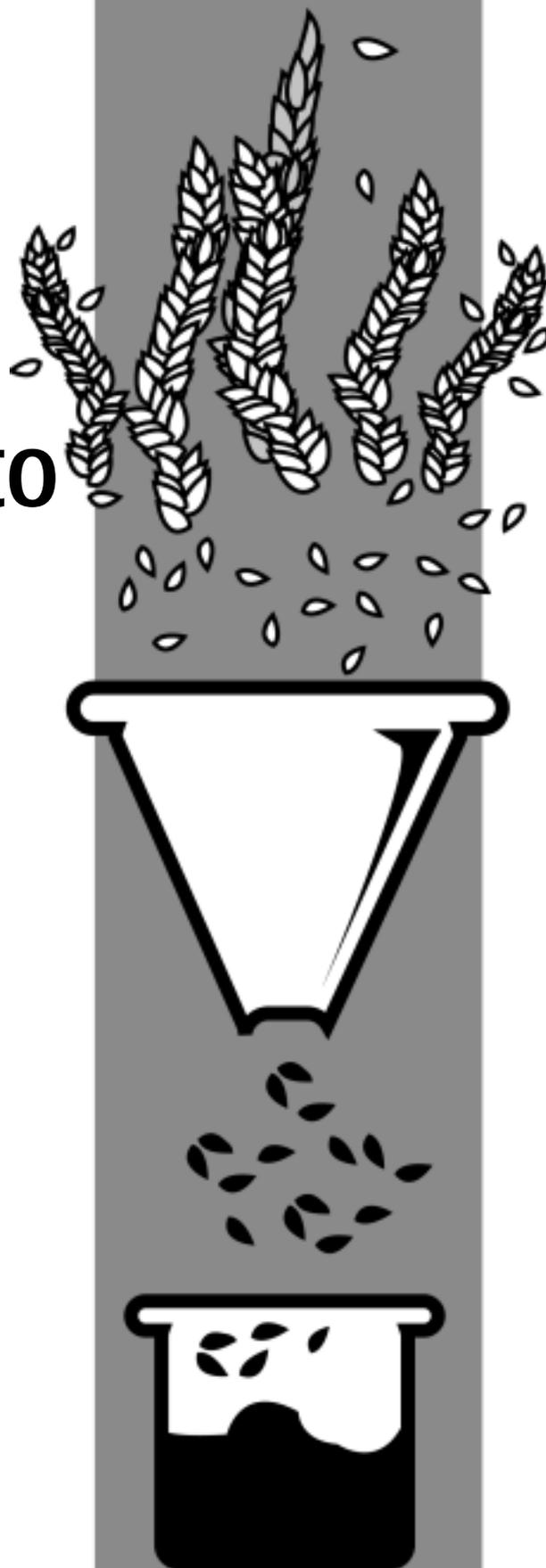
Aprovechamiento de residuos lignocelulósicos para la producción de enzimas ligninolíticas de elevado potencial biotecnológico*

M. en C. Ma. Aurora Martínez Trujillo**

Acerca del autor...

* El presente trabajo, está dedicado a la memoria
del Ing. Esteban Enrique Martínez Pelayo.

**Profesora e investigadora del Laboratorio de Catálisis Enzimática del
Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec
auro_mt@yahoo.com



Grandes cantidades de materiales celulósicos se desechan anualmente en todo el mundo como desperdicios, creando así problemas de contaminación ambiental. La utilización de dichos materiales como fuente para la producción de enzimas ligninolíticas, representa una amplia posibilidad biotecnológica.

Materiales Lignocelulósicos

Los materiales lignocelulósicos se clasifican generalmente como desperdicios o esquilmos agrícolas (pajas, rastrojos, etcétera), residuos agroindustriales (bagazo de caña, pulpa de café, etcétera), residuos forestales y desechos urbanos (pasto, desperdicio de vegetales de frutas y verduras en mercados, etcétera). En la actividad forestal, la producción de biomasa desperdiciada es todavía mucho mayor, representando aproximadamente el 75% del total de residuos lignocelulósicos totales. Debido a que los procesos de biodegradación natural no funcionan a la misma velocidad con que se generan dichos desperdicios, éstos se acumulan, llegando inclusive a convertirse en un peligro para el equilibrio ecológico.

Los materiales lignocelulósicos están constituidos esencialmente por celulosa (45-60%), hemicelulosa (15-50%) y lignina (10-30%). A la celulosa se le considera inclusive como el material renovable más abundante en la biósfera. El porcentaje de cada uno de estos polisacáridos varía, dependiendo del tipo de vegetal, del tejido y edad del mismo. El principal obstáculo que limita el aprovechamiento total de la celulosa y los otros polisacáridos presentes en los residuos lignocelulósicos, es la asociación íntima que presentan con la lignina. La lignina es un polímero estructural de las plantas, que les confiere rigidez y unión entre sus células. La principal función de la lignina, es proteger a los polisacáridos vegetales contra el ataque microbiano. Sin embargo, este compuesto limita la utilización de la celulosa y hemicelulosa como forraje, ya que su digestibilidad disminuye conforme aumenta el contenido de lignina (Chum & Overend, 2001).

Las Enzimas Ligninolíticas

Debido a la complejidad estructural que presentan los residuos lignocelulósicos, es necesario, para su conversión a

productos solubles, la acción de ácidos o enzimas. El proceso de hidrólisis ácida de la celulosa es muy común, sin embargo, existen algunos problemas asociados con el proceso, como la degradación del producto, la interacción del ácido con los materiales no celulósicos y la corrosión del equipo. Todo lo anterior puede provocar bajos rendimientos, impurezas de los jarabes y altos costos capitales. La utilización exitosa de los materiales lignocelulósicos como una fuente de carbono renovable, depende del desarrollo de procesos tecnológicos económicamente factibles, como lo es la hidrólisis microbiana o enzimática del material lignocelulósico hacia productos de menor peso molecular, como hexosas o pentosas, y la conversión química y/o biológica de dichos productos de hidrólisis hacia otros productos útiles que pueden ser utilizados como combustible líquido y materiales alimenticios. Las celulasas y hemicelulasas, son sistemas enzimáticos producidos por ciertos microorganismos, de entre los que destacan hongos y bacterias, durante la hidrólisis de materiales celulósicos. Debido a que los residuos lignocelulósicos son insolubles, los organismos que los utilizan deben secretar sus enzimas en forma extracelular, con el fin de facilitar el transporte de los productos solubles de estructuras más sencillas del interior de la célula (Gilbert & Hazelwood, 1993).

Las Celulasas y Hemicelulasas

La investigación activa sobre celulasas y otras polisacaridasas, inició a principios de los 50, debido a que se observó el enorme potencial que este tipo de enzimas tenían para convertir a la lignocelulosa en glucosa y otros azúcares solubles. Sin embargo, diversas investigaciones básicas y aplicadas, realizadas durante la década de los 70 y 80, demostraron que la bioconversión inducida de lignocelulosa a azúcares solubles era un tanto difícil y poco económica. A principios de los 80

Hoy día, estas enzimas se aplican ampliamente en la fabricación de alimentos, cervezas y vinos, alimentación animal, textiles y lavandería, la industria de la pulpa y el papel, así como en diversos campos de la investigación y el desarrollo.



comenzó la biotecnología de las celulasas y hemicelulasas, utilizándose en primera instancia a la alimentación animal, seguida por sus aplicaciones en alimentos (Ladish, et al., 1983; Montes-Horcasitas & Magaña-Plaza, 2002).

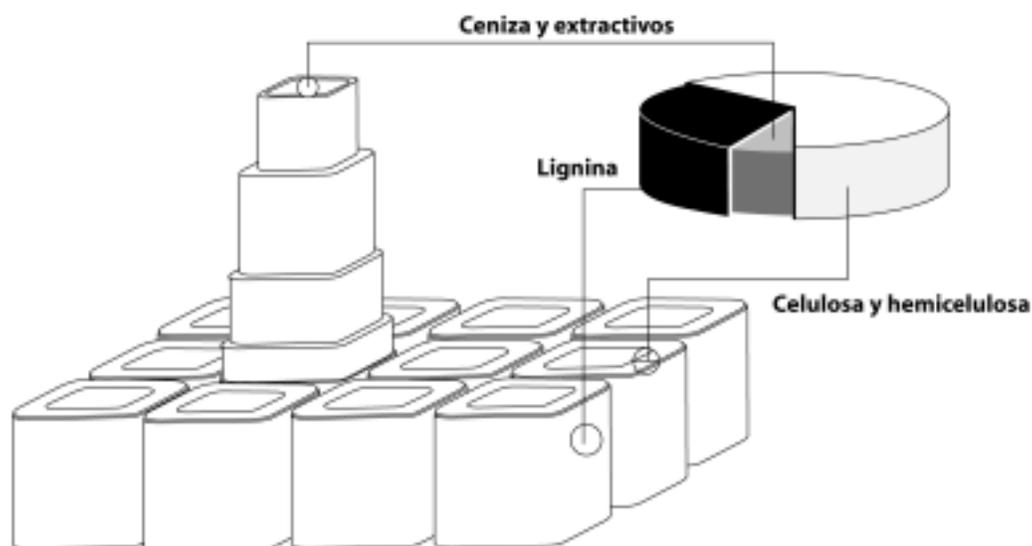
Aplicaciones

Las celulasas y hemicelulasas tienen un amplio rango de potenciales aplicaciones en la industria de la alimentación animal. Por ejemplo, enzimas como las α -glucanasas y las xilanasas han sido usadas exitosamente en la elaboración de dietas para animales monogástricos, aplicándolas con el fin de hidrolizar aquellos polisacáridos no almidonados, tales como las β -glucanas o las arabinoxilanas. La presencia de altos niveles de estos polisacáridos en la dieta de las aves, deriva en una baja velocidad de conversión del alimento, una ganancia lenta de peso y desechos pegajosos o viscosos. La adición de estas enzimas durante la producción del alimento, puede ayudar a degradarlos, mejorando marcadamente la digestión y la absorción de los componentes del mismo, por parte de los animales. Además, se ha observado que con alimentos pretratados enzimáticamente, las aves alcanzan una ganancia de peso considerable. Con lo anterior, se ha visto que el enriquecimiento de los alimentos para aves

y ganado con hemicelulasas, trae consigo algunos beneficios como una mejor formulación de la dieta, la posibilidad de utilización de materias primas baratas o residuos lignocelulósicos, un incremento en el valor energético de los cereales, una mayor digestibilidad, crecimiento y conversión del alimento, y un menor desperdicio, lo cual disminuye de la contaminación ambiental (Bedford & Classen, 1992).

Por otro lado, el forraje con el que se alimenta a los rumiantes, contiene principalmente celulosa, hemicelulosa, pectina y lignina, y es, por tanto, más complejo que el alimento para pollos y cerdos. En este rubro, se han utilizado preparaciones enzimáticas con altos niveles de celulasa, hemicelulasa y pectinasa, para mejorar su calidad nutritiva. Sin embargo, los resultados obtenidos al respecto son un tanto inconsistentes, sugiriendo que la aplicación de enzimas para mejorar la digestión de la fibra en los rumiantes puede estar ligeramente limitado y no ser tan factible (Chesson, 1987).

Existen además, algunos trabajos que proponen el aprovechamiento de los residuos lignocelulósicos y subproductos agrícolas para la producción de proteína unicelular, utilizada como aditivos en alimentos para animales. Otros, sugieren la sacarificación de los residuos lignocelulósicos para la produc-



ción de etanol, el cual puede ser utilizado posteriormente como combustible (De la Torre, 1981; Chandrakant & Bisaria, 1998).

Por lo general, en la mayoría de los países latinoamericanos, incluyendo México, la biomasa obtenida a partir de los residuos lignocelulósicos, es aprovechada de diversas maneras. Sin embargo, la producción nacional de dichos residuos, abre la posibilidad de utilizarlos en la producción de enzimas que puedan tener una importante aplicación industrial.

En lo que respecta al mercado enzimático, el 60% del suplemento mundial de enzimas industriales son producidas en Europa, y el 40% restante en Estados Unidos y Japón. Además, aproximadamente el 75% de estas enzimas industriales son hidrolasas, siendo las carbohidrolasas el segundo grupo más grande. Por otro lado, la industria de la alimentación animal es un sector importante de agronegocios a nivel mundial, con una producción anual de más de 600 millones de toneladas de alimento, cuyo valor rebasa los 50 billones de dólares. Del total del alimento producido, el mayor porcentaje lo ocupan las granjas de aves de corral, los cerdos y los rumiantes (arriba del 90%), mientras que los alimentos para mascotas y para granjas acuíferas consumen el otro 10% (Bhat, 2000).

El progreso en la biotecnología de las celulasas y la hemicelulasas es en verdad importante y está llamando la atención mundial. Hoy día, estas enzimas se aplican ampliamente en la fabricación de alimentos, cervezas y vinos, alimentación animal, textiles y lavandería, la industria de la pulpa y el papel, así como en diversos campos de la investigación y el desarrollo. Los crecientes avances científicos al respecto, han llevado a la especulación y la anticipación de su enorme potencial comercial en la biotecnología y la investigación. De esta forma, para abastecer la creciente demanda de celulasas y hemicelulasas y para destacar su elevado potencial en la biotecnología y la investigación, es necesario una continua e interdisciplinaria investigación, tanto en aspectos básicos como aplicados. Este desarrollo, junto con una mejora en el conocimiento científico, pueden abrir el camino para un desarrollo exitoso en la biotecnología de las celulasas y hemicelulasas durante el presente siglo.

¿Qué hacemos en el Laboratorio de Catálisis Enzimática del TESE?

Debido a la importancia comercial que tienen y tendrán las polisacarosas, en el Laboratorio de Catálisis Enzimática del Tecnológico de Estudios Superiores de

Ecatepec, se está probando actualmente la producción de celulasas y xilanasas, utilizando dos hongos filamentosos: *Phanerochaete chrysosporium* y *Aspergillus niger*. La principal característica de estos hongos es su capacidad para crecer sobre residuos lignocelulósicos, utilizándolos como única fuente de carbono. A la fecha, se han probado tres residuos lignocelulósicos: bagazo de caña, cáscara de cacahuate y cascarilla de arroz, y a partir de los sustratos que resultaron ser los mejores inductores de las actividades enzimáticas en cada hongo (Martínez-Trujillo, et al., 2002), se optimizaron las producciones de dichas enzimas, empleando diferentes herramientas estadísticas (Monroy-Martínez, et al., 2003; Monroy-Martínez, et al., 2004). En últimas fechas, y aprovechando un convenio de colaboración que tiene el TESE con la UNAM, el campo de estudio se amplió y se agregó al cepario una nueva variedad: *Aspergillus flavipes*. Este hongo fue aislado de frutas en descomposición, por lo que ha resultado un excelente productor de xilanasas y de pectinasas, que es otro tipo importante de polisacaridas a nivel industrial (Orozco, 2003). Por lo anterior, los esfuerzos se están encaminando en este momento a estudiar el comportamiento que tiene dicho hongo al degradar distintos tipos de polisacáridos, centrandose el estudio específicamente en la producción de pectinasas. A ese respecto, se ha avanzado al grado de saber el efecto que tienen diversos mono-, di- y polisacáridos cuando son la única fuente de carbono para el hongo (Martínez-Trujillo, et al., 2004). Con esos resultados, el siguiente paso es conocer el efecto que tienen el pH y el extracto de levadura en la producción de pectinasas, para que, a largo plazo, seamos capaces de predecir el comportamiento metabólico del hongo ante ciertas condiciones fisiológicas. 

- Bedford, M. R., Classen, H. L. 1992. The influence of dietary xylanase on intestinal viscosity and molecular weight distribution of carbohydrates in rye-fed broiler chicks. In: Visser J, Beldman G, Kusters-van Someren MA, Voragen AGJ, editors. Xylans and Xylanases, progress in biotechnology, Vol. 7. Amsterdam: Elsevier, pp. 361-370
- Bhat, M. K. 2000. Cellulases and related enzymes in biotechnology. *Biotechnology Advances*, 18: 355-383.
- Chandrakant, P., & Bisaria, V. S. 1998. Simultaneous Bioconversion of cellulose and hemicellulose to ethanol. *Critical Reviews in Biotechnology*, 18(4): 295-331.
- Chesson, A. 1987. Supplementary enzymes to improve the utilization of pigs and poultry diets. In: Haresing W., Cole DJA, editors. Recent advances in animal nutrition. London: Butterworths, pp. 71-89.
- Chum, H. L. & Overend, R. P. 2001. Biomass and renewable fuels. *Fuel Processing Technology*, 71: 1-3: 187-195.
- De la Torre, M. 1981. "Producción de proteínas alimenticias de origen unicelular en residuos lignocelulósicos". Tesis de Doctorado. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. IPN-México.
- Gilbert, H. J. & Hazelwood, G. P. 1993. Bacterial cellulases and xilanasas. *J. Gen. Microbiol.* 139, 187-194.
- Ladish, M. R., Lin, K. W., Voloch, M., Tsao, G. T. 1983. Process considerations in the enzymatic hydrolysis of biomass. *Enzyme Microbiol. Technol.* 5:82-100.
- Martínez T., M. A.; Castañeda, G. G.; Peralta P.R. 2002. "Producción de xilanasas y celulasas a partir de sustratos lignocelulósicos utilizando *Phanerochaete chrysosporium* A594. Memorias del III Encuentro Internacional de Biotecnología UPIBI, realizado en la ciudad de Querétaro, del 6 al 9 de noviembre del 2002.
- Martínez, T. M.A.; Trejo, A. B.; Gómez S. C. y Aguilar-O, G. 2004. Efecto de la fuente de carbono en la producción de pectinasas por *Aspergillus* sp. FP-500. Memorias del IV Encuentro Nacional de Biotecnología, UPIBI 2004, celebrado en la ciudad de Tlaxcala, del 10 al 12 de noviembre del 2004.
- Monroy, M. C.; Peralta, P.R.; Castañeda G.G. y Martínez-Trujillo, M.A. 2003. "Optimización de la producción de celulasas con *Phanerochaete chrysosporium* A594". Memorias del Congreso Internacional de Ingeniería Ambiental, celebrado en la ciudad de Mintatitlán, del 10 al 15 de noviembre del 2003.
- Monroy, M. C.; Peralta, P.R.; García R. M. y Martínez-Trujillo, M. A. 2003. "Optimización de la producción de xilanasas con *Phanerochaete chrysosporium* A594". Memorias del III Congreso Internacional, XIV Congreso Nacional y III Exposición de Ingeniería Bioquímica, celebrado en la ciudad de Veracruz, los días 31 de marzo y 1 y 2 de abril del 2004.
- Montes H., C. y Magaña-Plaza, I. 2002. "Enzimas con aplicación industrial". *Avance y perspectiva*, Vol. 21, 279-282.
- Orozco, I. M. 2003. "Evaluación de la capacidad de producción de sistemas enzimáticos complejos por cepas de *Aspergillus*". Tesis de Licenciatura. UNAM.

InMemoriam

Dr. Manuel Méndez Nonell



Nació en la ciudad de México en 1957; sus padres fueron Juan Méndez Hoyos y Eloina Nonell González.

Se recibió en 1979 como ingeniero Químico Metalúrgico, egresado de la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México. A los 27 años obtuvo el doctorado en Metalurgia, en la Universidad Sheffield, Inglaterra. Impartió cátedra a nivel licenciatura y posgrado en la UNAM, la Universidad Autónoma de Coahuila, la Universidad de Nuevo León y en el Centro de Investigación y de Estudios Avanzados (CINVESTAV) del IPN, dirigiendo 16 tesis a nivel maestría en ciencias y tres de doctorado.

Su campo de investigación fue el tratamiento del metal líquido en los procesos de solidificación. En lo que respecta a su aportación científica, ésta se resume en la producción de más de 70 artículos de investigación original, publicados en revistas y memorias de circulación internacional con arbitraje, y más de 30 artículos difundidos en ediciones científicas. Dictó 30 conferencias científicas en México, Inglaterra, España, Estados Unidos de América, Canadá, Polonia, Corea, Cuba, Argentina, Brasil, Panamá y Chile; presentó 60 conferencias en eventos y congresos científicos nacionales, desarrolló nueve trabajos de consultoría tecnológica para diversas empresas metalúrgicas, y fue autor de tres patentes, dos de ellas registradas en EUA.

Fue miembro activo de diversas comisiones ad honorem, tales como el Foro Permanente de Ciencia y Tecnología; órganos directivos y consejos técnicos del IMIS, INAOE, CIMAV, CICY, COMIMSA, CIDESI, CIATEQ, CICESE; del Consejo Directivo de la ADIAT; del Patronato de la Facultad de Química de la UNAM; del Consejo Nacional de Sistemas de Universidades Tecnológicas; del Comité Nacional de Materiales ante la OEA; del Comité de Comisiones Dictaminadoras de la UNAM; de la Universidad Autónoma de Nuevo León y de los Comités Editoriales de las revistas Ciencia y Desarrollo, Moldeo y Fundición, Tecnocultura y Vinculación.

Fue invitado por el CONACYT a participar en el Consejo Consultivo de Metalurgia (1989-1990), en el Comité de Selección de Becarios de Posgrado (1989-1991), en el Grupo Especial de Estudio sobre el Sistema Nacional de Investigadores (1989), en el Comité Evaluador de Procesos de Investigación Tecnológica (1989-1990); en el Comité Evaluador de Proyectos de Fortalecimiento al Posgrado Nacional (1990-1991); en el Comité de Recursos Humanos; en la Subcomisión Dictaminadora del Área IV del SIN (1991) y en el Comité de Ciencias Aplicadas (1994-1997). De igual forma, en el Comité de Revistas Científicas Mexicanas (1997-1998), en el jurado del Premio a la Excelencia del Sistema SEP-CONACYT (1998-1999), en el Comité de Proyectos de Infraestructura del mismo Sistema (1998-1999), y en el Consejo Directivo del Sistema Integrado de Información Científica Tecnológica, en el año 2000.

Recibió distinciones académicas como la Medalla "Gabino Barreda" al Mérito Universitario de la UNAM (1980); el Premio Nacional al Investigador del Año, otorgado por el Capítulo México de la American Foundryman's Society (1989); el Premio a Estudiantes de Posgrado de la Universidad de Sheffield; Mención Honorífica en el Concurso Nacional de Aluminio, y la Medalla al Mérito de Honor Metalúrgico de la Universidad de Cracovia, en Polonia (2001).

Desde 1985 fue miembro del Sistema Nacional de Investigadores, donde actualmente contaba con el Nivel II. En su trayectoria profesional tuvo diversas responsabilidades académico-administrativas en el Centro de Investigaciones y de Estudios Avanzados, del IPN (CINVESTAV), en donde fue Fundador y Director de la Unidad Saltillo (1985-1995), Secretario Académico (1995-1998) y Secretario de Planeación (1999-2000).

En el CONACYT fue invitado en abril del 2001 a ocupar la Dirección Adjunta de Desarrollo Científico y Tecnológico Regional. En julio del 2002 fue nombrado Director Adjunto de Desarrollo Regional y Sectorial, y a partir de julio del 2003, fue Director Adjunto de Ciencia.