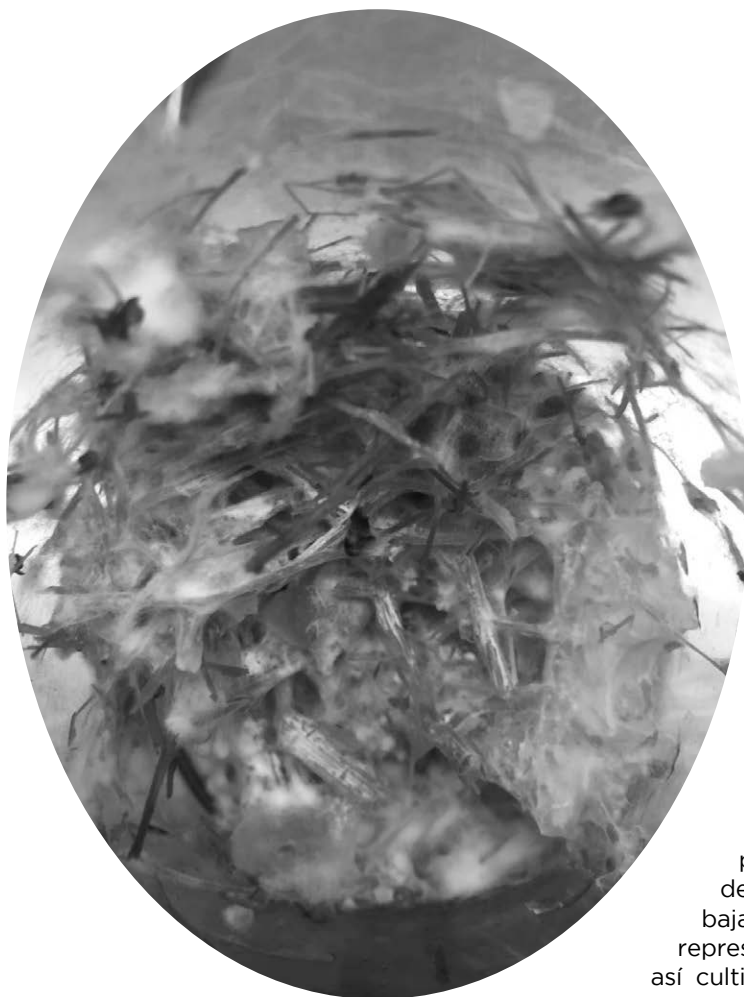


# El Uso de los Residuos Agroindustriales y la Fermentación Sólida para la Producción de Enzimas de Interés Industrial

\* María Aurora Martínez Trujillo



## RESUMEN

Los residuos agroindustriales son compuestos generados a partir del consumo o industrialización de productos primarios, y debido a su composición química compleja, rica en polisacáridos y lignina, pueden ser aprovechados para generar diversos productos de interés comercial. Uno de los usos más frecuentes para este tipo de materiales es como soportes y/o sustratos en donde los hongos filamentosos producen enzimas de interés industrial por fermentación sólida. Ésta se caracteriza por tener una elevada concentración de partículas sólidas en proporción con el agua presente en el sistema, ofreciendo a los microorganismos que ahí se desarrollan una baja actividad acuosa. Tiene ventajas considerables para el desarrollo de procesos, como la capacidad de generar altas producciones enzimáticas con una baja generación de efluentes, y la alta resistencia a la represión catabólica que presentan los microorganismos así cultivados. A pesar de que la fermentación sólida aún presenta diversos inconvenientes para el desarrollo de procesos a gran escala, se han generado muchos trabajos que la muestran como una excelente alternativa en diversos bioprocesos que podrían ser de interés para la industria. El presente trabajo muestra una revisión general de la fermentación sólida, basada en las características que deben tener los residuos agroindustriales para ser utilizados como sustratos en ella y las enzimas de interés industrial que suelen ser producidas por esta modalidad.

### Acerca de la autora...

\* Docente del Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec.

**Palabras clave:** Residuos lignocelulósicos, polisacáridos, lignina, hongos filamentosos, hongos de la pudrición blanca.

## **ABSTRACT**

*Agroindustrial wastes are compounds generated from the consumption or industrialization of primary products. and because of their complex chemical composition, rich in polysaccharides and lignin, can be used to generate various products of commercial interest. One of the most frequent uses for this type of materials is as supports and/or substrates in which filamentous fungi produce enzymes of industrial interest by solid state fermentation (SSF). This is characterized by a high concentration of solid particles in proportion to the water present in the system, offering a low water activity to the microorganisms that will be developed there. SSF has considerable advantages during the development of processes, such as the ability to generate high enzymatic productions with a low effluent generation, and the high resistance to catabolic repression of the microorganisms thus grown. Although solid fermentation still presents several drawbacks for the development of large-scale processes, many works have been generated that show it as an excellent alternative in various bioprocesses that could be of interest to the industry. Although SSF still presents several drawbacks for the development of large-scale processes, many works that show it as an excellent alternative for the development of bioprocesses that could be of interest to the industry. The present work shows a general review of SSF, based on the characteristics that agroindustrial residues must have to be used as substrates, and the enzymes of industrial interest that are usually produced by this modality.*

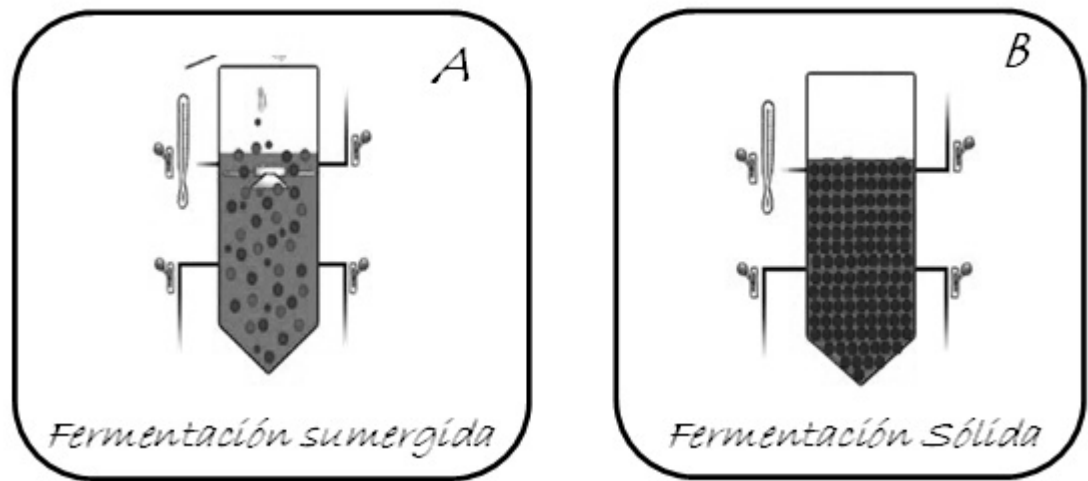
**Key words:** *Lignocelulosic residues, polysaccharides, lignin, filamentous fungi, white rot fungi.*

## **INTRODUCCIÓN**

Los residuos agroindustriales son materiales en estado sólido que se generan a partir del consumo directo de productos primarios o de su industrialización, y que ya no son de utilidad para el proceso que los generó, pero que son susceptibles de aprovechamiento o transformación para generar otro producto con valor económico de interés comercial. Aunque actualmente una fracción de estos materiales es aprovechada, la gran mayoría de ellos siguen siendo eliminados como materiales de desecho. Las características de los residuos agroindustriales son muy variadas, dependen de la materia prima y del proceso que los generó. No obstante, comparten una característica principal, que es el contenido de materia orgánica, constituida por diferentes porcentajes de celulosa, lignina, hemicelulosa y pectina (Saval, 2012).

Estos materiales pueden ser empleados como soporte o sustrato para desarrollar cultivos microbianos con el objetivo de obtener metabolitos diversos, dando con ello valor agregado a los residuos agroindustriales. Dichos cultivos microbianos pueden ser de dos tipos: la fermentación sumergida (FS), en donde se tiene el material sólido en menor proporción que los líquidos (Figura 1A); y la fermentación sólida (FSS), donde los sólidos se encuentran sólo humedecidos, al estar en mayor proporción respecto a los nutrientes líquidos (Figura 1B).

La fermentación en estado sólido es una técnica conocida desde hace siglos y se define como el proceso fermentativo en el cual los microorganismos crecen sobre una matriz sólida en ausencia o casi ausencia de agua libre. En dicho proceso, los materiales empleados como sustratos pueden actuar simultáneamente como soportes y fuente de nutrientes para los microorganismos que se cultivan en ellos. Lo anterior se debe a su composición heterogénea, constituida por polisacáridos como hemicelulosa, celulosa, lignina y/o pectina, cuyos componentes monoméricos son los iniciadores



**Figura 1**

Representación gráfica de los dos tipos de cultivo microbiano en los que se utilizan los residuos agroindustriales como sustrato: la fermentación sumergida (A) y la fermentación sólida (B). El medio de cultivo está representado en rojo, y los residuos agroindustriales en azul.

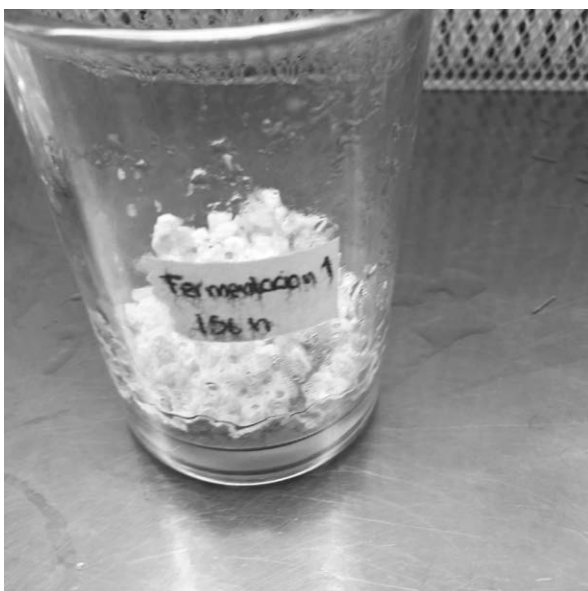
de las rutas metabólicas básicas de diferentes especies de microorganismos (Costa *et al.*, 2010; García *et al.*, 2007). Para lograr la degradación de los polisacáridos, los microorganismos producen enzimas, que en las últimas décadas han tenido auge para su empleo en diversas aplicaciones a nivel industrial.

Este trabajo presenta las características generales de la fermentación sólida y hace una revisión breve de las enzimas de interés a nivel industrial que se producen por fermentación sólida desarrollada sobre residuos agroindustriales.

### **Características generales de la fermentación sólida**

En los procesos de fermentación sólida se utilizan microorganismos, tales como bacterias, levaduras y hongos, capaces de crecer en bajas actividades acuosas (Hölker *et al.*, 2004). De éstos, son los hongos filamentosos los que se adaptan con mayor facilidad a las condiciones bajo las que se lleva a cabo la fermentación sólida, debido a sus propiedades fisiológicas, enzimáticas y bioquímicas: su crecimiento en forma de hifas les permite penetrar los sustratos, favoreciendo la colonización y la utilización de los nutrientes que encuentran a su disposición; además de su habilidad para crecer en bajas actividades acuosas y altas presiones osmóticas (Pérez Guerra *et al.*, 2003). La Figura 2 muestra una imagen del desarrollo de *Aspergillus flavipes* FP-500 creciendo sobre cáscara de limón.

La fermentación sólida presenta un elevado potencial para la producción de enzimas de interés industrial a costos relativamente económicos, debido a que con frecuencia emplea como soporte y/o sustrato diversos residuos agroindustriales. Además, puede ofrecer altos volúmenes de producción con una baja generación de efluentes, y tiene gastos de energía reducidos, al no ser necesaria la agitación. Una de sus principales ventajas es la de contar con una alta resistencia a la represión catabólica, al simular las condiciones que el microorganismo encuentra en el ambiente natural que suele habitar (Hölker *et al.*, 2004; Viniegra y Favela, 2006).



**Figura 2**

Fermentación sólida de *Aspergillus flavipes* FP-500 creciendo sobre cáscara de limón luego de 48 horas de cultivo.

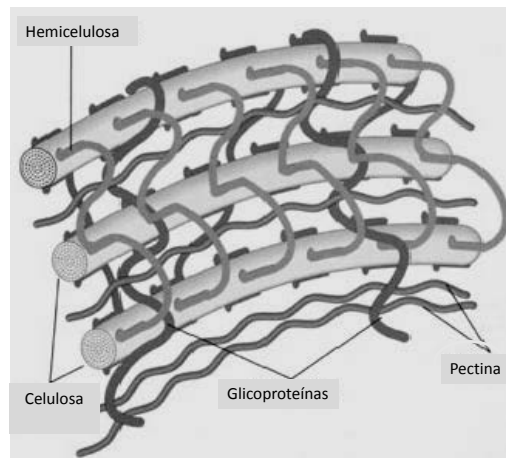
Sin embargo, la fermentación sólida aún no ha logrado superar algunos inconvenientes, como la dificultad para controlar las variables del proceso, la escasez o complejidad de los procedimientos analíticos requeridos para la cuantificación directa de biomasa y/o el consumo de sustrato, y las condiciones heterogéneas durante el desarrollo del cultivo (Bhargav *et al.*, 2008).

## Los sustratos para la fermentación sólida

La fermentación sólida es un proceso microbiano que ocurre principalmente en la superficie de materiales sólidos, que pueden absorber o contener agua y que están en presencia o ausencia de nutrientes solubles. Para lo anterior, existen dos modalidades: en la primera, un material orgánico sólido funge como soporte para el crecimiento y fuente de nutrientes, donde el proceso ocurre esencialmente en ausencia de agua; en el segundo, se utiliza como soporte un material sólido sintético, nutricionalmente inerte, mismo que se humedece con una solución de nutrientes que contiene a la fuente de carbono. Aunque esta segunda modalidad no es tan frecuente, presenta algunas ventajas, como la posibilidad de controlar y monitorear el proceso de cultivo (Toca-Herrera *et al.*, 2006).

En lo que respecta a la primera modalidad, se han utilizado diferentes residuos agroindustriales, entre los cuales destaca el bagazo de caña de azúcar, el bagazo de naranja, la cáscara de uva, el salvado de trigo, la cáscara de arroz, la cáscara de trigo, el olote de maíz, la cáscara de plátano, entre otros (Bhargav *et al.*, 2008). Para que éstos sirvan como fuente de nutrientes, deben estar conformados por polisacáridos diversos, tales como celulosa, hemicelulosa, pectina y lignina, principalmente. La Figura 3 representa la composición de la pared celular de los residuos lignocelulósicos.

La elección del residuo agroindustrial que se utilice para el desarrollo de una fermentación sólida depende de algunos parámetros físicos, tales como el tamaño de partícula, la humedad, el espacio intra- particular y la composición del sustrato, todos ellos relacionados con el costo y la disponibilidad del material (Pandey *et al.*, 2000).



**Figura 3**

Composición de la pared celular de los materiales lignocelulósicos.

### Producción de enzimas por fermentación sólida

La producción de enzimas es una de las más importantes aplicaciones de la fermentación sólida, debido a la estabilidad de las mismas y el bajo nivel de represión catabólica que presentan los sistemas microbianos ante esta condición operativa. El tipo de cepa, las condiciones de cultivo, la naturaleza del sustrato, y la disponibilidad de los nutrientes son factores que afectan el desarrollo de estos cultivos. En general, las enzimas secretadas por fermentación sólida suelen ser de especial interés en procesos que no las requieren con alto nivel de pureza, mientras que los residuos agroindustriales son considerados como los mejores sustratos para tal fin (Krishna, 2005).

Dentro de las enzimas de interés industrial que se producen mediante fermentación sólida se encuentran las proteasas, amilasas, glucoamilasas, celulasas, ligninasas, xilanasas, pectinasas, fitasas y lipasas (Rodríguez Cuoto y Sanroman, 2006; Aguilar *et al.*, 2008).

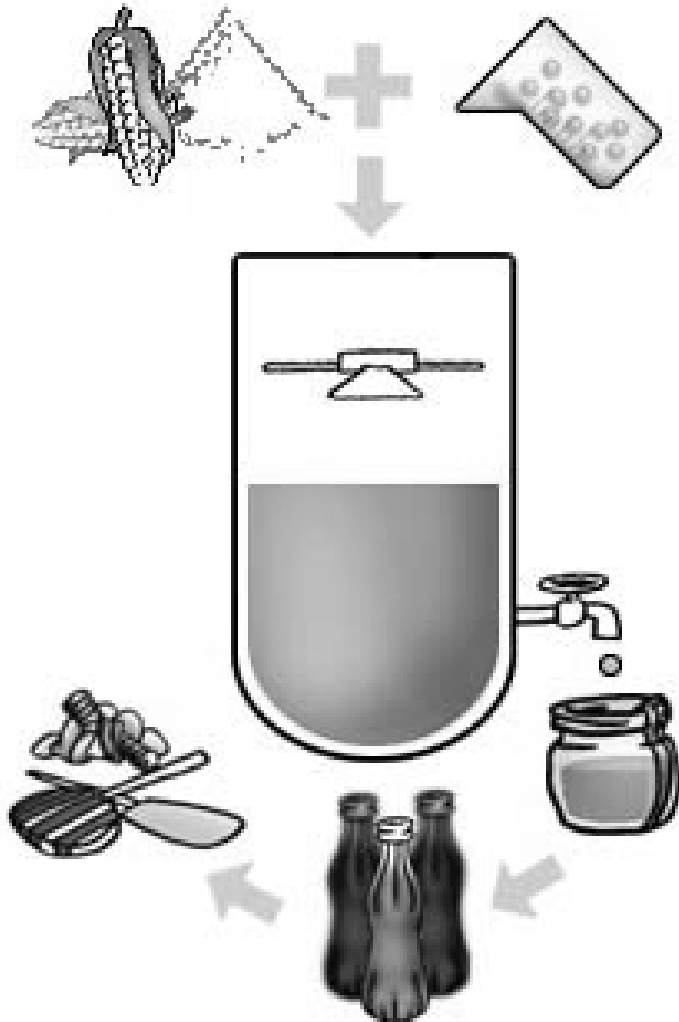
Las proteasas son de las enzimas más importantes a nivel industrial, y se encargan de catalizar la hidrólisis de grasas. Por lo anterior se utilizan en el procesamiento de alimentos, así como en detergentes, la industria lechera y la de curtiduría (Figura 4). Aún cuando se pueden obtener de plantas y animales, las proteasas comerciales son generadas exclusivamente por microorganismos, específicamente aquellos hongos de los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Rhizopus*, utilizando como sustratos principalmente los salvados de trigo y arroz (Chutmanop *et al.*, 2008).



**Figura 4**

Las enzimas son utilizadas en la industria de la curtiduría.

Las amilasas catalizan la conversión de almidón a dextrinas y glucosa y tienen diversas aplicaciones industriales, entre las que destaca la obtención de jarabes (Figura 5). Su producción se lleva a cabo sobre todo mediante fermentación sólida, ya que resulta más barata y genera mayores rendimientos para la obtención de enzimas. Se ha encontrado que los sustratos con los que se logra una mayor producción de esta actividad enzimática son la maltosa y el almidón, así como los residuos agroindustriales ricos en estos compuestos. Los principales microorganismos productores de esta actividad enzimática son los hongos filamentosos del género *Aspergillus* y las bacterias del género *Bacillus* (Vieira Costa *et al.*, 2007; Saban Tanyildizi *et al.*, 2007).



**Figura 5**

Las enzimas son utilizadas en la producción de jarabes

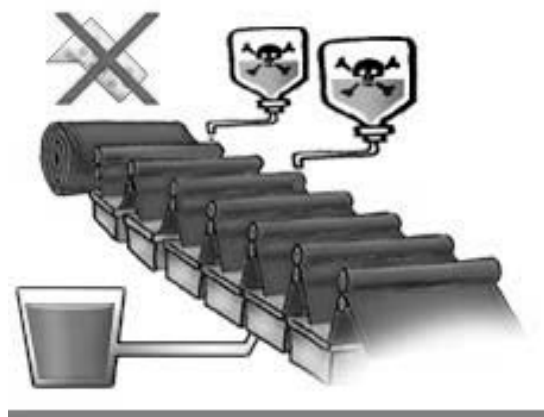
Las celulasas son enzimas inducibles, sintetizadas por una diversidad de microorganismos, que incluyen hongos y bacterias durante su crecimiento sobre materiales conformados fundamentalmente por celulosa. Se han reportado organismos celulolíticos aerobios, anaerobios, mesofílicos y termofílicos. Dentro de éstos, los del género *Clostridium*, *Cellulomonas*, *Thermomonospora*, *Trichoderma* y *Aspergillus* son los más estudiados como los más sobresalientes generadores de celulasas. Se utilizan en procesos tales como la fabricación de alimentos, la nutrición animal, la elaboración de cerveza y vino (Figura 6), la agricultura, la refinación de biomasa, la industria de la pulpa y el papel, la industria textil y la de lavandería (Kuhad *et al.*, 2011).

**Figura 6**

Las enzimas se utilizan en la elaboración de cerveza.

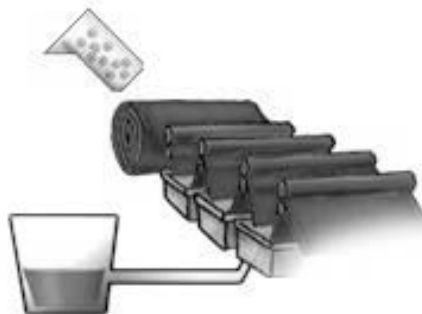


Las enzimas ligninolíticas, a las que pertenecen las lacasas y peroxidasas, son producidas por hongos de la pudrición blanca, como aquellos de los géneros *Phanerochaete* y *Trametes*, utilizando mayormente residuos agrícolas ricos en compuestos lignocelulósicos, por ejemplo los bagazos, raíces, desechos de la fabricación de aceites, cáscaras de frutas, salvado de trigo y madera (Rodríguez Cuoto y Sanroman, 2005). Las lacasas son de interés industrial para diversos bioprocesos, como los de biopulpeo, biblanqueo (Figura 7) y el tratamiento de las aguas residuales generadas en los dos primeros (Toca Herrera *et al.*, 2007).



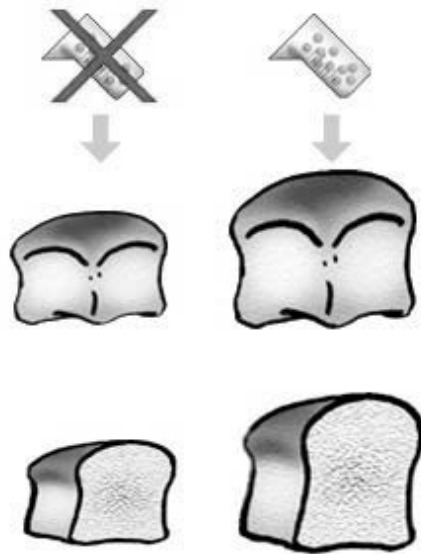
**Figura 7**

El uso de las enzimas en el proceso de bioblanqueo de papel, ayuda a reducir el uso de químicos contaminantes.



Las xilanasas se encargan de la hidrólisis de la xilana a sus componentes monoméricos, y son producidas sobre todo por hongos de los géneros *Aspergillus* y *Trichoderma* spp. Para la obtención de xilanasas por fermentación sólida se han utilizado azúcares simples, tales como galactosa, glucosa y xilosa (Farani *et al.*, 2001) y las celulosas y hemicelulosas contenidas en los residuos agroindustriales (Pandey *et al.*, 2000). Estas enzimas han sido usadas ampliamente en el blanqueo de pulpas durante la fabricación

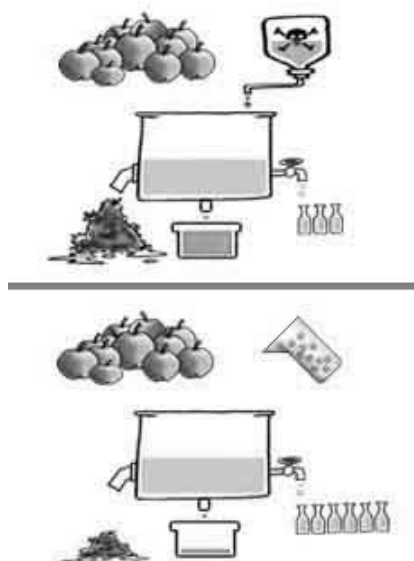
del papel, la elaboración de alimentos para ganado, la extracción de jugos, saborizantes, especias, aceites y pigmentos, la clarificación de jugos y vinos, la producción de xilanas modificadas para emplearlas como materia prima en el procesamiento de alimentos (Figura 8), la obtención de edulcorantes, el enriado del lino, cáñamo, yute y sisal, el refinamiento de pulpas para la producción de rayón viscoso, y ésteres y éteres de celulosa, así como la sacarificación de desechos agrícolas y forestales para la producción de combustibles y materias primas de procesos químicos (Ahuja *et al.*, 2004; Bajpai, 2004; Loera Corral y Villaseñor-Ortega, 2006).



**Figura 8**

El uso de enzimas en la elaboración de pan mejora las características de la masa e incrementa el volumen del producto final.

Las pectinasas son un grupo de enzimas encargadas de degradar las sustancias pécticas presentes en las células vegetales. Se generan mediante el empleo de sustratos ricos en pectina, como salvado de trigo, bagazo de caña, pulpa de café, cáscara de limón y manzana, y granos de cabeza de girasol, en todos los casos mediante el empleo de hongos filamentosos del género *Aspergillus* (Patil y Dayanand, 2006). Se utilizan ampliamente a nivel industrial para la extracción, clarificación y concentración de jugos de frutas (Figura 9), la clarificación de vinos, la extracción de aceites, sabores y pigmentos de las plantas, y la preparación de fibras de celulosa para la manufactura de lino, yute y cáñamo (Castilho *et al.*, 2000).



**Figura 9**

Empleo de las enzimas para la clarificación de jugos de frutas.



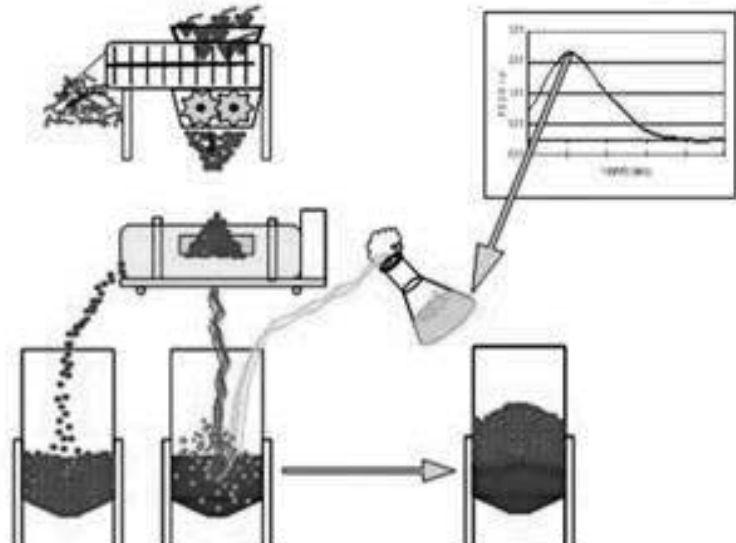
Las fitasas catalizan la hidrólisis de ácido fítico y sus sales (fitatos) a fosfatos de inositol, mioinositol y fosfato inorgánico. Se utilizan en la industria alimenticia (Figura 10), debido a que incrementan la absorción de fósforo durante la digestión en animales de granja como cerdos, aves de corral y peces, pero también en humanos (Salmon *et al.*, 2012). Las fuentes microbianas son las más prometedoras para la producción de fitasas a escala industrial. Entre las especies fúngicas de mayor importancia para la producción industrial de fitasas por fermentación sólida, destacan *A. niger* y *A. ficcum* (Krishna, 2005).

**Figura 10**

Las enzimas pueden ser empleadas en la elaboración de alimentos para aves.



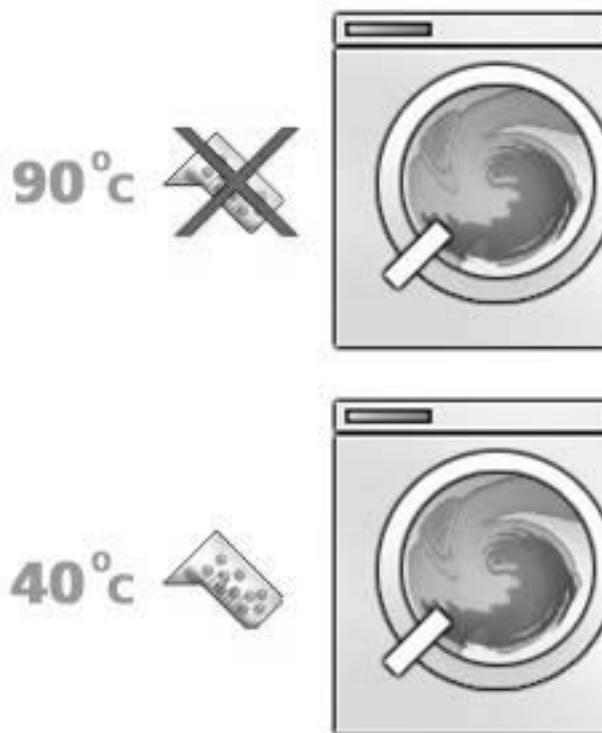
Las tansas son producidas por hongos de los géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus* sp., la levadura *Candida* sp y la bacteria *Bacillus* sp. Su mayor aplicación industrial es en la hidrólisis de galotanimos a ácido gálico, un importante intermediario de la síntesis de un compuesto antibacteriano. Además, se aplican para la preparación de bebidas instantáneas con sabor a vino (Figura 11), cerveza y café, así como aditivos para la detanificación de alimentos. En su producción por fermentación sólida se utilizan diversos residuos agroindustriales, como salvados de trigo y arroz, tortas de aceite de coco y maní, pulpa de remolacha de azúcar, olote de maíz, cáscara de soya, harinas de maíz y trigo, entre otros (Paranthaman *et al.*, 2008)



**Figura 11**

Uso de enzimas para la elaboración de vino.

Las lipasas se conocen como eficientes biocatalizadores para la hidrólisis de esteres de ácidos grasos insolubles en agua. Actualmente se emplean a escala industrial como aditivos en detergentes (Figura 12), la elaboración de alimentos dietéticos en la industria alimenticia, para la obtención de moléculas bioactivas destinadas a la industria farmacéutica y la obtención de compuestos ópticamente puros durante los procesos de síntesis química, así como las modificaciones de grasas y lípidos mediante las reacciones de hidrólisis y esterificación. Son producidas esencialmente por hongos de los géneros *Rhizopus*, *Aspegillus* y *Penicillium*, sobre diferentes sustratos sólidos, como las tortas provenientes de los procesos de obtención de aceites de sésamo, babasú, olivo, soya y coco, así como el salvado de trigo y arroz, la harina de almendra y el bagazo de caña de azúcar (Longo *et al.*, 2008).



**Figura 9**

Las enzimas en los detergentes permiten que el proceso de lavado se lleve a cabo a temperatura ambiente.

## Conclusiones

La fermentación sólida es una técnica de cultivo muy útil para la producción de enzimas de relevancia industrial, al emplear residuos agroindustriales como soportes y/o sustratos. En los últimos años se ha incrementado el empleo de esta técnica de cultivo, debido a las diversas aplicaciones de las enzimas así obtenidas, para desarrollar bioprocesos que permitan generar grandes cantidades de estas enzimas, a fin de explotarla a nivel comercial.

## Referencias

- Aguilar**, C.N., Gutiérrez-Sánchez, G., Prado-Barragán, L.A., Rodríguez-Herrera, R., Martínez-Hernández, J.L. y Contreras-Esquível, J.C. 2008. Perspectives of Solid State Fermentation for Production of Food Enzymes. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology* 4 (4): 354-366
- Ahuja**, S. K., Ferreira, G. M. y Moreira, A.R. 2004. Utilization of Enzymes for Environmental Applications. *Critical Reviews in Biotechnology*, 24(2-3):125-154
- Bajpai**, P. 2004. Biological Bleaching of Chemical Pulps. *Critical Reviews in Biotechnology*, 24(1):1-58
- Bhargav**, S., Panda, B. P., Ali, M. y Javed, S. 2008. Solid-state Fermentation: An Overview. *Chem. Biochem. Eng. Q.* 22(1): 49-70.
- Castilho**, L.R., Medronho, R.A. y Alves, T.L.M. 2000. Production and extraction of pectinases obtained by solid state fermentation of agroindustrial residues with *Aspergillus niger*. *Bioresource Technology*, 71: 45-50.
- Chutmanop**, J., Chuichulcherm, S., Chisti, Y. y Srinophakun, P. 2008. Protease production by *Aspergillus oryzae* in solid-state fermentation using agroindustrial substrates. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 83:1012-1018.
- Costa**, M., Torres, M., Magariños, H. y Reyes, A. 2010. Producción y purificación parcial de enzimas hidrolíticas de *Aspergillus ficuum* en fermentación sólida. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 2(XII): 163-175.
- Farani**, D., Marques, C. y Peralta, R. 2001. Effect of easily metabolizable sugars in the production of xylanase by *Aspergillus tamar* in solid-state fermentation. *Process Biochemistry*, 36: 835-838.
- García**, O. N., Bermúdez, S. R. C., Augur, C., Roussos, S. y Perraud, G. I. 2007. Producción de lacasas extracelulares, remoción de fenoles y cafeína por *Pleurotus* spp. cultivado en pulpa de café. *Tecnología Química*, 3(XXVII): 83-91.
- Hölker** U; Höfer M.; Lenz J. 2004. Biotechnological advantages of laboratory-scale solid-state fermentation with fungi. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 64: 175-186
- Krishna**, C. 2005. Solid-State Fermentation Systems—An Overview. *Critical Reviews in Biotechnology*, 25:1-30
- Kuhad**, R.C., Gupta, R. y Singh, A. 2011. Microbial Cellulases and Their Industrial Applications. *Enzyme Research*. doi:10.4061/2011/280696.
- Loera** Corral O. y Villaseñor-Ortega, F. 2006. Xylanases, en "Advances in Agricultural and Food Biotechnology". Ramón Gerardo Guevara-González and Irineo Torres-Pacheco, Editores. 305-322.
- Longo**, M.A., Deive, F.J., Domínguez, A. y Sanromán, M.A. 2008. Solid state fermentation for food and feed application, en "Current developments in solid state fermentation". Biscar editores. 379-411.
- Pandey**, A., Selvakumar, P., Soccol, C. R., and Nigam, P. 2000. Solid state fermentation for the production of industrial enzymes. *Curr Sci.*, 77:149-162.
- Paranthaman**, R., Vidyakshmi, R., Murugesh, S., & Singaravadivel, K. 2008. Optimisation of fermentation conditions for production of tannase enzyme by *Aspergillus oryzae* using sugarcane baggase and rice straw. *Global J. Biotechnol. Biochem.*, 3, 105-110.
- Patil**, S.R. y Dayanand, A. 2006. Optimization of process for the production of fungal pectinases from deseeded sunflower head in submerged and solid-state conditions. *Bioresource Technology*, 97: 2340-2344.
- Pérez-Guerra**, N., Torrado-Agrasar, A., López-Macias, C. y Pastrana, L. 2003. Main characteristics and applications of solid substrate fermentation. *Electronic Journal of environmental, agricultural and food chemistry*. 2(3): 343-350.
- Rodríguez** Cuoto, S. y Sanromán, M.A. 2005. Application of solid-state fermentation to ligninolytic enzyme production. *Biochemical Engineering Journal* 22: 211-219.
- Rodríguez** Cuoto, S. y Sanroman, M.A. 2006. Application of solid-state fermentation to food industry—A review. *Journal of Food Engineering* 76: 291-302.
- Saban** Tanyildizi, M., Özer, D. y Elibol, M. 2007. Production of bacterial  $\alpha$ -amylase by *B. amyloliquefaciens* under solid substrate fermentation. *Biochemical Engineering Journal* 37: 294-297
- Saval**, S. 2012. Aprovechamiento de residuos agroindustriales: pasado, presente y futuro. *BioTecnología*. 2(16): 14-46.
- Toca-Herrera**, J. L., Osma, J. F., & Couto, S. R. 2007. Potential of solid-state fermentation for laccase production. *Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology*, 391-400.
- Vieira** Costa, J.A., Colla, E., Magagnin, G., Oliveria dos Santos, L., Vendruscolo, M. y Bertolin, T.E. 2007. Simultaneous Amyloglucosidase and Exo-polygalacturonase Production by *Aspergillus niger* using Solid-state Fermentation. *Brazilian archives of Biology and Technology*, 50(5): 759-766.
- Viniegra** - González, G. y Favela, T. E. 2006. Why Solid-State Fermentation Seems to be Resistant to Catabolite Repression?. *Food Technol. Biotechnol.* 44(3): 397-406.
- Salmon**, D. N. X., Piva, L. C., Binati, R. L., Rodrigues, C., de Souza Vandenberghe, L. P., Soccol, C. R., & Spier, M. R. 2012. A bioprocess for the production of phytase from *Schizophyllum commune*: studies of its optimization, profile of fermentation parameters, characterization and stability. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 35(7), 1067-1079.