

# XILANASAS MICROBIANAS Y SU APLICACIÓN INDUSTRIAL

Laura Mireya Flores Niño\*  
Ma. Aurora Martínez Trujillo\*\*

**Palabras clave:** xilano, xilanasas, aplicaciones industriales.

## Resumen

Las xilanasas son un conjunto de enzimas, producidas por algunos microorganismos, que actúan de manera sinérgica y secuencial sobre la estructura del xilano para degradarlo y convertirlo en sus azúcares constitutivos. Su importancia a nivel industrial radica en esa capacidad de degradar dicho polisacárido. En las últimas décadas, las xilanasas han encontrado aplicaciones en diversos procesos industriales. Este trabajo presenta una breve revisión de las características del xilano como estructura, las xilanasas como sistema enzimático y las aplicaciones industriales de estas últimas.

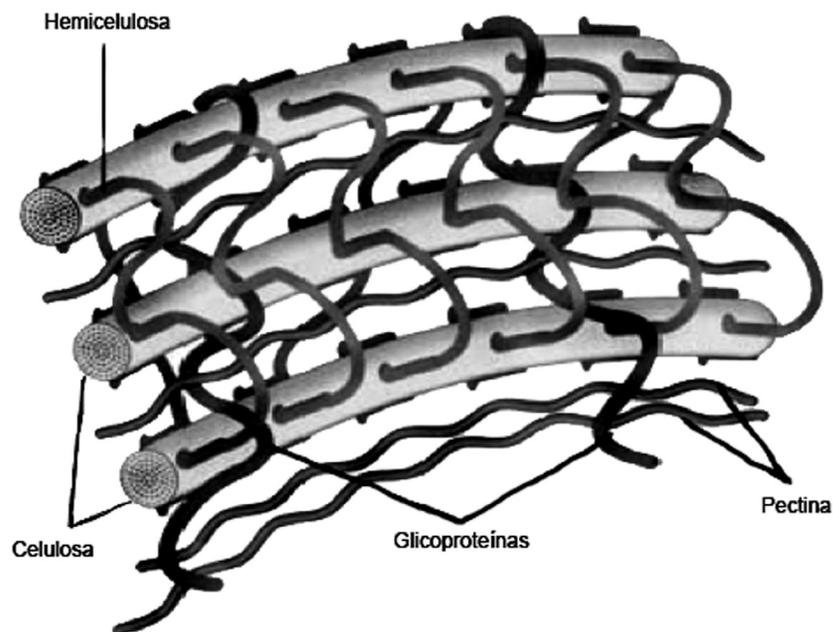
## Abstract

*Xylanases are a group of enzymes produced by some microorganisms. They act in synergic and sequential way on xylan structure, degrading it into the constitutive sugars. Its importance on industrial level is because their ability for degrading this polysaccharide. In the last decades, xylanases have been applied in several industrial processes. This work presents a mini review about the characteristics of xylan as structure, xylanases as enzymatic system and the main industrial application of these enzymes.*

## Acerca de los autores...

\* Estudiante de la Maestría en Ciencias en Ingeniería Bioquímica del TESE,

\*\* Profesora de la Maestría en Ciencias en Ingeniería Bioquímica del TESE



**Figura 1.** Representación de la pared celular de las plantas y de la disposición de los polisacáridos que la conforman (celulosa, pectina y hemicelulosa).

## LOS POLISACÁRIDOS DE LA PARED CELULAR

La pared celular de las plantas está formada en un 90% por polisacáridos, lo que hace a éstos los compuestos orgánicos más abundantes en la naturaleza. Los polisacáridos pueden dividirse en tres grandes grupos, tal como se muestra en la Figura 1.

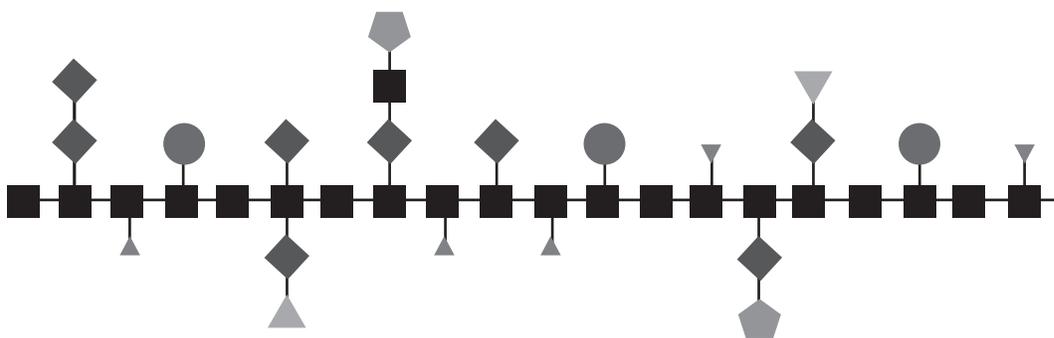
**1) La celulosa.** Es el mayor componente de los polisacáridos de la pared celular y es un polímero lineal conformado por residuos de D-glucosa (unidos por enlaces  $\beta$ -1,4), dispuesto en forma de fibras. Una de sus principales funciones es la de conferir rigidez a la pared celular (de Vries y Visser, 2001)

**2) La pectina.** Es un heteropolisacárido complejo, conformado por una cadena lineal de unidades de ácido D-galacturónico, unidos entre sí por enlaces  $\alpha$ -1,4, que pueden estar acetilados en los carbonos 2 ó 3, y metilados en el carbono 6, además de tener ramificaciones de azúcares como arabinosa, galactosa, xilosa y fucosa, entre otros. Su función en la pared celular de las plantas es como cemento intercelular (Have et al., 2002).

**3) La hemicelulosa.** Es un grupo de polisacáridos heterogéneos que conforma al segundo compuesto orgánico más abundante en la pared celular de las plantas. De todos los polisacáridos que integran al grupo de las hemicelulosas, el xilano es el más representativo, debido a su abundancia en los cereales y en la madera (De Vries y Visser, 2001). Su presencia en la pared celular de las plantas, le confiere la porosidad adecuada

### ESTRUCTURA DEL XILANO

El xilano está compuesto por una cadena lineal de unidades de D-xilosa, unidas por enlaces  $\beta$ -1,4, con ramificaciones de otros azúcares, como ácidos glucurónicos, arabinosas, galactosas, ácidos ferúlicos y xilosas, tal como se muestra en la Figura 2.



**Figura 2.** Representación de la estructura del xilano (De Vries y Visser, 2001).

Las ramificaciones de la cadena principal del xilano dependen de la fuente de donde provenga. Así, en la madera de abedul el 89.3% es xilosa, el 1% arabinosa, el 1.4% es glucosa y el 8.3% es ácido anhidrouónico; en el trigo el 65.8% es xilosa, el 33.5% es arabinosa, 0.1% es manosa, el 0.1% es galactosa, y el 0.3% es glucosa; el arroz contiene 46% de xilosa, 44.9% de arabinosa, 6.1% de galactosa, 1.9% de glucosa y 1.1% ácido anhidrouónico (Saha, 2003). En general, el xilano es la mayor hemicelulosa en la madera de las angiospermas (del 15 al 30%), pero es la menos abundante en la madera de las gimnospermas (del 7 al 12%) (Wong *et al.*, 1988).

### LAS XILANASAS

El xilano, así como los materiales que lo contienen, pueden ser utilizados como única fuente de carbono por los microorganismos que poseen la capacidad de producir el sistema enzimático encargado de degradarlos. Entre dichos microorganismos es posible encontrar diversas levaduras, bacterias y hongos.

El sistema enzimático encargado de degradar al xilano y los materiales ricos en éste, se conoce como sistema

xilanolítico. Está conformado por un conjunto de enzimas hidrolíticas que actúan de manera sinérgica y secuencial para degradar al xilano hasta sus azúcares constitutivos. En general, el sistema xilanolítico se encuentra formado por cinco tipos diferentes de xilanasas, las cuales actúan de manera específica sobre la estructura del xilano (Ponce-Noyola y Pérez Ávalos, 2002; Saha, 2003):

**1) Endo-β-D-xilanasas.** Estas enzimas actúan de manera aleatoria sobre la estructura del xilano, atacando los enlaces glicosídicos de la cadena principal de la molécula, liberando xilooligosacáridos de menor tamaño.

**2) Exo-β-D-xilosidasas.** Catalizan la hidrólisis de 1,4-β-D-xilooligosacáridos, cortando a partir de los residuos de D-xilosa no reducidos.

**3) α-arabinofuranosidasas.** Hidrolizan las cadenas laterales de arabinosa.

**4) Acetil-xilan-esterasas.** Liberan los grupos acetato de la cadena principal.

**5) Glucoronidasas.** Remueven las cadenas laterales de ácido glucurónico a partir de unidades de xilosa.

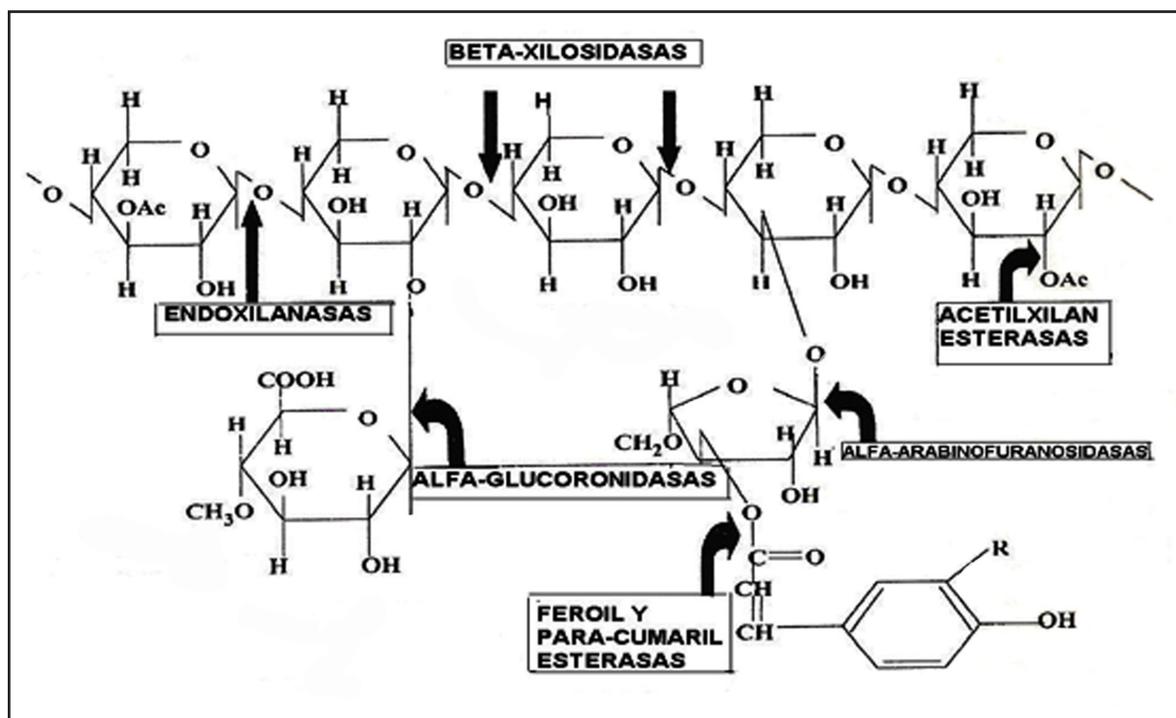


Figura 3. Mecanismo de acción de las xilanasas sobre la estructura del xilano (Beg *et al.*, 2001).

### IMPORTANCIA DE LAS XILANASAS

El interés por las enzimas que forman al sistema xilanólítico comenzó alrededor de los años 50, debido a su enorme potencial para convertir la lignocelulosa en glucosa y azúcares solubles (Ponce-Noyola y Pérez-Ávalos, 2002). En la actualidad, el empleo de residuos agro-industriales ha ido en aumento en la producción de xilanasas por diversos microorganismos. La Tabla I resume los sustratos y microorganismos utilizados para este fin.

Tabla I. Producción de xilanasas en diversos sustratos.

Sustrato	Microorganismo	Referencia
Xilano	<i>Aspergillus awamori</i>	Siedenberg <i>et al.</i> , 1998
Xilano	<i>Streptomyces sp</i>	Beg <i>et al.</i> , 2001
Bagazo de caña	<i>Cellulomonas flavigena</i>	Pérez-Avalos <i>et al.</i> , 1996
Bagazo de caña	<i>Streptomyces sp</i>	Beg <i>et al.</i> , 2001
Bagazo de caña	Cultivo mixto de hongos	Gutiérrez-Correa y Tengerdy, 1998
Bagazo de caña	<i>Aspergillus awamori</i>	Siedenberg <i>et al.</i> , 1998
Paja de arroz	<i>Bacillus circulans</i>	Subramaniyan y Prema, 2002
Avena	<i>Streptomyces sp.</i>	Subramaniyan y Prema, 2002

La biotecnología de las xilanasas se inició a principios de los años 80, primero en la alimentación animal (como aditivos en los alimentos para aves de corral), seguida por aplicaciones en la industria de alimentos, tales como la mejora en las propiedades nutricionales de los productos agrícolas y granos de forraje, la extracción del café, aceites de plantas y almidón, la clarificación de jugos y vinos, y para mejorar el manejo de la harina de trigo. Posteriormente empezaron a utilizarse en las industrias de lavandería, y la textil (para despegar las fibras de las plantas, tales como lino, cáñamo y yute), así como en el proceso de blanqueo de la pulpa y el papel (Beg *et al.*, 2001).

#### **XILANASAS EN LA INDUSTRIA DE LA PANIFICACIÓN**

En la industria de la panificación, las xilanasas, especialmente las endo-1,4- $\beta$ -xilanasas, se adicionan a la masa para mejorar su calidad, logrando la obtención de panes con mejor textura y sabor (Ponce-Noyola y Pérez-Ávalos, 2002). La acción mejoradora de las xilanasas radica en la destrucción de la capacidad de enlace del agua con los xilanos de la harina de trigo, liberando agua y provocando una mayor suavidad de la masa. Lo anterior se ve reflejado en un aumento en el volumen de la masa horneada (Tucker y Woods, 1995).

Por su parte, en harinas con alto contenido de fibra, la adición de xilanasas mejora la costra, la textura de la hogaza y el volumen del pan. La absorción de agua en la masa disminuye en cierto modo, pero el contenido de humedad en el pan no se altera (Stauffer, 1991). Otro posible efecto de las xilanasas es el de compensar los efectos negativos de los xilanos insolubles presentes en la harina, que afectan el volumen de la hogaza y la estructura de la miga (Tucker y Woods, 1995).

Para los procesos de panificación, se aprovechan diversos preparados enzimáticos. Así, además de xilanasas, se utilizan amilasas, oxidasas y proteasas. Éstos se pueden emplear en un concentrado enzimático que contiene todas esas actividades o bien por separado, empleando preparaciones concentradas de las enzimas o una enzima pura. Empresas tales como la alemana Muehlenchemie cuentan con una extensa investigación respecto al uso de estas enzimas como mejoradoras de harinas, y ofrecen a las industrias un concentrado enzimático rico en xilanasas, llamado ALPHAMALT, que ha encontrado diversas aplicaciones en la industria panadera ([www.muehlenchemie.de/español](http://www.muehlenchemie.de/español)).

Por otro lado, la firma italiana Millbo comercializa xilanasas para la industria panadera. Su producto, de nombre M200 y M200X, se obtiene mediante una fermentación con *Aspergillus* spp en fermentación ([www.millbo.it](http://www.millbo.it)). En México, empresas como Danisco, Enmex y Paniplus son las encargadas de producir y comercializar preparaciones enzimáticas para industrias alimentarias.

#### **XILANASAS EN EL BLANQUEO DE LA PULPA KRAFT**

Una de las aplicaciones más destacadas de las xilanasas es la que se da en la industria de la pulpa y del papel, donde a través de estas enzimas se ha logrado la sustitución de blanqueadores químicos, como el cloro, en el proceso de blanqueo de la pulpa tradicional, luego de la remoción de 95% de la lignina (Durán, 1994). La enzima empleada en la delignificación de la pulpa kraft es la endo- $\beta$ -xilanasas, aunque el enriquecer el concentrado xilanólico con otras enzimas hemicelulolíticas ha demostrado mayor eficacia en este tratamiento (Bajpai, 1999).

El mecanismo por el cual se blanquea la pulpa mediante la adición de enzimas, se basa en la acción de las xilanasas, que remueven y reprecipitan el xilano presente en la superficie de las fibras de la pulpa. Posteriormente se realiza la extracción de esta estructura, removiendo la lignina residual que le confiere el color café. Las xilanasas actúan en la superficie de las fibras de celulosa, haciendo una pulpa más permeable para la subsecuente extracción química de la lignina residual (Viikari et al., 1994).

Hoy día, un número significativo de fábricas de todo el mundo utilizan un proceso completo de blanqueo con xilanasas. Además, diferentes productos, incluyendo papeles para revistas y papeles con determinado tejido que son manufacturados con pulpas tratadas enzimáticamente, han sido introducidos con éxito al mercado (Ponce Noyola y Pérez-Ávalos, 2002).

#### OTRAS APLICACIONES DE LAS XILANASAS

Las hemicelulosas interfieren con la biodisponibilidad de nutrimentos, afectando la productividad de los cereales empleados en la alimentación avícola. A ese respecto, las xilanasas se han aplicado para reducir la fibra no amilácea de harinas de alto valor proteico usadas en alimentos balanceados para pollo, lo que favorece la digestibilidad de la dieta (Lagunas Bernabé et al., 2006).

#### LO QUE HACEMOS EN EL LABORATORIO DE CATÁLISIS ENZIMÁTICA DEL TESE

Una de las líneas de investigación que se siguen en el Laboratorio de Catálisis Enzimática del TESE está centrada en el uso de residuos agroindustriales para la producción de polisacarosas de interés industrial, a partir de la fermentación de estos materiales con hongos filamentosos. Específicamente, se trabaja

con cepas del género *Aspergillus*, clasificadas como buenas productoras de xilanasas, gracias a una colaboración con el Grupo de Fisiología de Hongos Filamentosos de la Facultad de Química de la UNAM.

A partir del 2006, comenzó a desarrollarse un proyecto, cuya espina dorsal es una tesis de maestría, la cual propone probar diversos residuos agroindustriales lignocelulósicos como sustratos, así como algunas condiciones de operación para obtener un concentrado enzimático rico en xilanasas; el objetivo principal es identificar las propiedades de las xilanasas que componen este concentrado, para que, a partir de ellas, sea posible proponer su uso a escala industrial.

Además del sistema xilanolítico, se tienen proyectos referentes al estudio de la producción de celulasas y pectinasas, que van desde la investigación básica (estudio del metabolismo del hongo) hasta la que implica una mayor tendencia a su aplicación industrial, como la optimización de las condiciones de cultivo para conseguir un tipo de enzima en particular (Martínez-Trujillo y Aguilar Osorio, 2007).

#### Bibliografía...

Bajpai, P. 1999. "Application of enzymes in the pulp and paper industry". *Biotechnol. Prog.* **15**:147-157.

Beg Q. K., M. Kapoor, L. Mahajan, G.S. y Hoondal (2001). "Microbial xylanases and their industrial applications: a review". *Applied Microbiology Biotechnology* **56**:326-338.

De Vries R. P. y Visser J. (2001). "Aspergillus enzymes involved in degradation of plant cell wall polysaccharides". *Microbiology and Molecular Biology Reviews* **65**:497-522.

Durán, N. (1994). *Aspergillus* sp 2M1 xylanase: production, characterization and application in the pulp and paper industry. *Advances in Bioprocess Engineering*, 489-494.

Gutiérrez-Correa y Tengerdy, R. P. (1998). "Xylanase production by fungal fermentation on sugar cane bagasse". *Biotechnology Letters* **20** (1):45-47.

Have, A.T., Tenberge, K.B., Benen, J., Tudzynski, P., Visser, J. y Van Kan, A.L. (2002). "The contribution of cell wall degrading enzymes to pathogenesis of fungal plant pathogenus". *The Mycota XI, Agricultural Applications*. Capítulo 17 pp. 341 – 358. Kempken (Ed). Springer-Verlag Berlín Heidelberg.

Lagunas Bernabé, I., García Almedáñez, B., Castaño Tostado, E, Regalado-González, C. y Ávila González, E. (2006). *Producción de enzimas hemicelulolíticas por fermentación sólida y su aplicación en alimento balanceado para pollo de engorda*. *Vet. Méx.*, 37(1): 1-13.

Martínez-Trujillo, A. y Aguilar-Osorio, G. (2007). "La metodología de superficie de respuesta para describir la producción de endopoligalacturonasas por *Aspergillus flavipes* FP-500 sobre cáscara de limón". *Tecnocultura* **15**: 26-32

Pérez-Ávalos, O., Ponce-Noyola, T., Magaña-Plaza, I. y de la Torre M (1996). "Induction of xylanase and  $\beta$ -xylosidase in *Cellulomonas flavigena* growing on different carbon sources". *Applied Microbiology Biotechnology* **46**:405-409

Ponce Noyola T. y Pérez Avalos O. (2002). "Celulasas y Xilanasas en la industria". *Avance y Perspectiva* **21**:273-277.

Saha, B.C. (2003). "Hemicellulose bioconversion". *J Ind Microbiol Biotechnol* **30**:279-291.

Siedenberg, D., Gerlach, SR., Schugeri K., Giuseppin M.F. y Hunik J. (1998). "Production of xylanase by *Aspergillus awamori* on synthetic medium in shake flask cultures". *Process Biochemistry* **33**:429-433.

Stauffer, C.E. (1991). "Functional additives for bakery foods". *Van postran reinhold*, 136-151.

Subramanian S. y Prema P. (2002). "Biotechnology of Microbial Xylanases: Enzymology, Molecular Biology and Application. Critical". *Reviews in Biotechnology* **22**:33-46.

Tucker, G.A. y Woods, L.F.J. (1995). "Enzymes in food processing". *Chapman and Hall*, 2<sup>nd</sup> edition, 190-221.

Viikari L., Kantelinen A., Sundquist J. y Linko M. (1994) "Xylanases in bleaching: From an idea to the industry". *FEMS Microbiology Reviews* **13**:335-350.

Wong KKY, Tan LUL., y Saddler J. N. (1988). "Multiplicity of  $\beta$ -1,4-Xylanase in microorganisms: functions and applications".