

Revista de la Sociedad Mexicana de  
**Biotechnología**  
y Bioingeniería A.C.

Año 2014 Volúmen 18 Número 3  
ISSN 0188-4786



Sociedad Mexicana de  
Biotechnología y Bioingeniería

#### MESA DIRECTIVA

Dr. Cristóbal Noé Aguilar González  
**Presidente**

Dr. Carlos Regalado González  
**Vice-Presidente**

Dr. Adelfo Escalante Lozada  
**Secretario**

Dra. María Teresa Torres Mancera  
**Tesorera**

Dr. Nicolás Oscar Soto Cruz  
**Subsecretario**

Dr. José Luis Martínez Hernández  
**Vocal Profesional**

QFB Olga Berenice Álvarez Pérez  
**Vocal Estudiante**

ISSN 0188-4786, revista cuatrimestral publicada por la Sociedad Mexicana de Biotecnología y Bioingeniería, A.C. incluida en PERIÓDICA, índice de Revista Latinoamericanas en Ciencias (CICH-UNAM). Certificado de Licitud de Título en trámite y Certificado de Licitud de Contenido en trámite. Reserva de derechos de Título04-1999-082516265000-101. Los Conceptos que en ella aparecen son responsabilidad exclusiva de los autores. Se prohíbe la reproducción total o parcial

#### COMITÉ EDITORIAL

Dr. Sergio Sánchez Esquivel  
**Editor en Jefe**  
**Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM**

Dr. Luis Bernardo Flores Cotera  
**CINVESTAV**

Dr. Fernando Luis García Carreño  
**CIBNOR**

Dr. Mariano Gutiérrez Rojas  
**UAM-I**

Dra. Romina Rodríguez Sanoja  
**Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM**

Dra. Sara Solís Pereira  
**Instituto Tecnológico de Mérida**

Dra. Elizabeth Langley McCarron  
**Instituto Nacional de Cancerología**

Dr. Víctor Manuel Loyola  
**Centro de Investigación Científica de Yucatán**

#### DISEÑO GRAFICO E IMAGEN

Lic. Nayeli Quinto (**SODIO**)

de su contenido sin previa autorización por escrito del Comité editorial. Toda correspondencia deberá enviarse a Km. 23.5 Carretera Federal México-Cuernavaca, Av. Cipreses s/n, Col. San Andrés Totoltepec, C.P. 14400, Del. Tlalpan, México, D.F. o a la siguiente dirección electrónica [smbb1982@gmail.com](mailto:smbb1982@gmail.com)

# Índice

---

## EDITORIAL

### **La Falsa Percepción de la Biotecnología y en Particular de los Organismos Genéticamente Modificados**

Víctor M. Loyola Vargas 3

## INSTRUCCIONES PARA AUTORES 6

## ARTÍCULOS

### **Actividades Enzimáticas de Hongos para el Pre-tratamiento de Residuos Lignocelulósicos**

Peggy Elizabeth Álvarez-Gutiérrez, Zazil Corzo-González, Gustavo Yañez-Ocampo y Yolanda del Carmen Pérez-Luna 11

### **Los Alimentos: una Aproximación Proteómica en su Estudio**

Jocelin Rizo, Catalina Cárdenas y Romina Rodríguez-Sanoja 30

### **La Falsa Percepción de la Biotecnología y en Particular de los Organismos Genéticamente Modificados**

Un programa de mejoramiento genético de plantas que no contemple el uso combinado de las mejores prácticas de la agricultura orgánica, de las nuevas técnicas biotecnológicas y de la agricultura tradicional está destinado al fracaso. Estas técnicas se complementan una a la otra.

En mayo del año 2013 se cumplieron 30 años del primer artículo en el que se publicó que la modificación genética es posible<sup>1</sup>. Este trabajo, bajo el liderazgo de Marc Van Montagu y Jeff Schell tuvo como base los trabajos pioneros de Armin Braum en los Estados Unidos, Mary-Dell Chilton en los Estados Unidos, Rob Schilperoort en los Países Bajos y Marc Van Montagu y Jeff Schell en Bélgica. Desde entonces, prácticamente no hay un día en la prensa en la que no haya una noticia que involucra a los organismos genéticamente modificados (OGMs). Desde la destrucción de sembradíos de arroz dorado, hasta la prohibición de sembrar soya transgénica en la Península de Yucatán para que la miel que se vende en Europa no esté “contaminada” con polen transgénico. Científicos y organizaciones ecologistas están divididos por igual sobre su percepción acerca de los OGMs. También ambas partes están hablando lenguajes diferentes.

Es posible que ambas partes de la ecuación tengan parte de la razón. Un análisis de todos los hechos puede llevarnos a una solución razonada. ¿Hay que preservar la biodiversidad? Absolutamente. Debemos hacer todo lo que científicamente sea posible para conservar las especies silvestres, así como las semillas de las variedades criollas. Esto, alrededor del mundo. Las ventajas, bondades y recompensas de la biotecnología vegetal deben llegar también a los productores y no quedarse sólo en las grandes compañías. También debe tenerse consciencia de que la agricultura tradicional modifica genéticamente a las plantas. El maíz, las fresas y los jitomates que llevamos a la mesa no existían como tales

---

<sup>1</sup> Herrera-Estrella L., A. Depicker, M. Van Montagu y J. Schell, Expression of chimaeric genes transferred into plant cells using a Ti-plasmid-derived vector, *Nature*, 303(5914): 209-213, (1983).

en la naturaleza antes de que el hombre inventara la agricultura y modificara a sus ancestros.

Por el otro lado, debe hacerse consciencia de que la superficie arable del mundo ya se agotó (1,500 millones de hectáreas) y al menos de que sigamos destruyendo la selva y nuestras reservas ecológicas, necesitamos de otras soluciones para cultivar los alimentos que necesitamos para una población creciente. Desde luego el aumento en la producción es una de ellas; especies más resistentes a diferentes extremos ambientales, tanto bióticos como abióticos, está a la cabeza de todas las investigaciones para mejorar la productividad agrícola. Entre ellas nuevas variedades que puedan ser cultivadas en los suelos cada vez más salinos que nos está dejando el uso intensivo de la irrigación. Otra importante necesidad se encuentra en proporcionar a la población los suplementos alimenticios que requiere para una buena salud. La producción de arroz dorado, para suministrar a la población su requerimiento diario de vitamina A, es un buen ejemplo al respecto.

Los OGMs, en particular las plantas, están proporcionando parte de la solución. En el año 2012 se sembraron 170 millones de hectáreas, de las cuales el 70% se sembraron en solo cinco países (Estados Unidos, Brasil, Argentina, Canadá e India). Las dos principales características para los cuatro principales cultivos transgénicos que se siembran (soya, maíz, algodón y colza) son la resistencia a insectos y la tolerancia a herbicidas. En los casos de la soya y el algodón, los cultivos transgénicos son ya más del 80% del total sembrado.

Otra área en la que las plantas transgénicas pueden tener un impacto muy significativo en la producción de materia prima para la obtención de biocombustibles. Sin embargo, aún en el campo del uso de las plantas con fines industriales, se está dando la controversia, como se ve por el cierre de las plantaciones de papa transgénica en Alemania.

No hay una solución perfecta a un problema, sobre todo cuando involucra aspectos culturales como el caso del maíz en México. La solución no está en publicitar a los OGMs como la única y mejor de las soluciones y tampoco en denigrarlos. La solución debe darse caso por caso. Para empezar una de las

mejores acciones que podemos tomar al respecto es proporcionar información oportuna y verídica sobre los OGMs. En primer lugar, debe dejarse claro que con el uso de OGMs no se resolverán todos los problemas de la alimentación humana y ganadera, pero si pueden resolver problemas específicos. También debe crearse un programa de educación de la población en general que deje claro los pros y contras de los OGMs, de tal forma que un público informado pueda tomar decisiones inteligentes. Debe continuarse con los programas de seguridad alimentaria, con el fin de recabar información suficiente que permita llegar a conclusiones razonables y científicamente apoyadas sobre su cuestionada inocuidad. Se esgrime que el uso de OGMs ha propiciado el surgimiento de las súper malezas. En realidad el causante es el uso de los herbicidas. Es cierto que el elevado uso de glifosato ha seleccionado “súperhierbas”, pero se olvida que el uso de otros herbicidas, como la atrazina, para el cual no se ha modificado ninguna planta, ha propiciado hasta ahora la aparición de 64 especies resistentes a dicho herbicida. Lo mismo ha sucedido con el uso de otros herbicidas.

Los países que forman la Unión Europea son los que más se han visto afectados por este debate. La primera semana de diciembre de 2014, el Parlamento Europeo, finalmente llegó al acuerdo de que cada país miembro podrá, en lo particular, tomar la decisión si prohíbe o no la siembra de cultivos transgénicos. Parece una solución razonable después del estancamiento que se había producido por varios años.

En México nos toca crear iniciativas que permitan llegar a una solución sobre el tema de los OGMs. Éstas deben contemplar el respeto por la biodiversidad, los aspectos culturales y deberán propiciar soluciones biotecnológicas al campo mexicano.

**Dr. Víctor M. Loyola Vargas**

Unidad de Bioquímica y Biología Molecular de Plantas, CICY, Calle 43 No. 130, Col. Chuburná de Hidalgo, CP 97200, Mérida, Yucatán.

E-mail: [vmloyola@cicy.mx](mailto:vmloyola@cicy.mx)

# Instrucciones para los autores

## Guía de Autores

La revista puede recibir trabajos de investigación original así como de revisión en los campos de la biotecnología y bioingeniería. Todos los manuscritos serán sujetos a revisión por al menos dos miembros del Comité Editorial y deberán contar con una recomendación de aceptación para ser publicados.

Los idiomas de la revista son el Español y el Inglés.

Los trabajos se escribirán en hoja tamaño carta (21.6 cm x 27.6 cm). Los márgenes aplicados a todo el manuscrito serán de 2.5 cm para los extremos superior e inferior, así como 3 cm de cada lado. Las páginas deberán estar numeradas en la parte inferior y central de cada hoja.

Se recomienda que los trabajos completos tengan un máximo de 25 páginas, escritas con un interlineado de 1.5 renglones, incluyendo las tablas y figuras. Las publicaciones de trabajos originales y revisiones en la revista Biotecnología están exentas de costo para los autores.

Cuando corresponda, se recomienda el uso de abreviaturas para referirse a unidades de tiempo (h, min, s), de volumen (l, ml,  $\mu$ l), de peso (kg, g, mg,  $\mu$ g), DNA, RNA y otras comúnmente aceptadas en la literatura científica.

Los trabajos de investigación original pueden tocar cualquiera de los diversos campos que cultivan la biotecnología y la bioingeniería, desde sus aspectos fundamentales hasta las aplicaciones de los mismos, incluyendo: microbiología, bioquímica y biología molecular, procesos y proyectos, así como biotecnología marina y biotecnología aplicada a la salud, alimentos, agricultura, veterinaria, enzimas y ambiente.

Los trabajos de investigación original serán divididos en las siguientes secciones: **Introducción, Materiales y métodos, Resultados, Discusión, Referencias y Agradecimientos**. Las secciones de **Resultados y Discusión** pueden presentarse combinadas.

Los trabajos de revisión incluirán el tema y subtemas que a juicio de los autores sean necesarios para la mejor presentación de la información. Estos trabajos pueden cubrir los siguientes contenidos:

1. ¿Qué es y para qué sirve la Biotecnología?. Es decir: descripciones que ilustren y divulguen los distintos campos de la biotecnología, sus alcances y limitaciones, su historia y sus perspectivas.
2. Las fronteras de la biotecnología: revisiones de nuevos campos o nuevas aplicaciones de la biotecnología. Por ejemplo: las perspectivas del uso de los genomas para el desarrollo de nuevas drogas o para el tratamiento de enfermedades metabólicas. Las perspectivas de la genómica (estudio sistemático de los genes y sus aplicaciones), la proteómica (predicción de la expresión de los genes en proteínas funcionales) y la fenómica (predicción de fenotipos o conductas de los organismos, en base a sus genes y a sus proteínas). El uso de la ingeniería

# Instrucciones para los autores

genética para hacer ingeniería metabólica. Los nuevos tipos de reactores biológicos y los fenómenos de transporte implicados. Los nuevos esquemas de reacción, separación y control en procesos biotecnológicos.

3. Aplicaciones de la Biotecnología para resolver problemas o atender necesidades de la sociedad, con especial atención a sus aplicaciones ya vigentes en México. Esta sección será dedicada a una empresa o institución (pública o privada) que desee difundir los logros obtenidos en algún campo de la biotecnología. Por ejemplo: empresas productoras de antibióticos o productos biológicos, empresas de ingeniería ambiental que usen procesos biotecnológicos, empresas agropecuarias, forestales o de acuicultura que usen tecnologías biológicas avanzadas, o empresas de transformación de alimentos que utilicen enzimas, cultivos de microorganismos, etc. Esta lista es indicativa pero no exhaustiva.
4. Problemas de bioseguridad, bioética y biodiversidad relacionados con las aplicaciones de la biotecnología a la sociedad. Por ejemplo: análisis y comentarios sobre los debates acerca del uso de semillas transgénicas, los problemas de conservación y explotación de la biodiversidad mediante la biotecnología, los riesgos del uso de organismos transgénicos en diversos campos de la industria, los problemas de bioseguridad del uso de antibióticos y otros productos biotecnológicos.
5. La educación, la cultura y la difusión tecnológica en relación con la biotecnología. Por ejemplo: comentarios de planes y programas, de estilos y necesidades de la enseñanza, del enfoque interdisciplinario, en carreras o planes de estudio directamente ligados con la biotecnología. También necesidades y modalidades sobre programas de extensión educativa para la industria, para el público consumidor o para grupos selectos de personas interesadas en la biotecnología (políticos, funcionarios de empresas, líderes de opinión). El uso de la informática en la difusión de la biotecnología, y en general, el análisis de necesidades, métodos y alternativas para difundir los conocimientos de la biotecnología.
6. Oportunidades y propuestas para mejorar la cooperación y el desarrollo biotecnológicos. Por ejemplo: Análisis de las oportunidades vigentes de intercambio académico o comercial en biotecnología. Propuestas de nuevas formas de cooperación entre los sectores de investigación y la industria biotecnológica. Análisis y propuestas del uso óptimo de recursos humanos, financieros o materiales para mejorar la cooperación o el desarrollo de la biotecnología. En esta sección se dará espacio a los análisis, críticas o propuestas de los aspectos legales y fiscales que afecten e incluso puedan mejorar el desarrollo de la biotecnología en México. Tales como: la propiedad industrial, el régimen fiscal de las empresas, el costo del desarrollo biotecnológico y los subsidios o estímulos económicos para el desarrollo de la biotecnología.

Tanto los trabajos de investigación original como las revisiones deberán apegarse al siguiente formato:

# Instrucciones para los autores

1. El título del manuscrito será puesto en **negritas** con letra Arial o equivalente tamaño **14**. El título deberá estar centrado.

2. El nombre de los autores ocupará los siguientes renglones escribiendo el nombre y primer apellido de cada participante. Se usará letra Arial o equivalente tamaño **12**. Los nombres de los participantes deberán estar centrados, señalando con un asterisco el autor responsable de la publicación. En el siguiente renglón con letra itálica Arial del mismo tamaño, se incluirá la dirección postal de la institución de adscripción de los autores, así como el e-mail del autor corresponsal.

3. Se deberá añadir un **Resumen** de no más de 250 palabras en Español y un **Abstract** en Inglés de tamaño similar.

4. Se incluirán entre 3 a 6 **Palabras clave**: que permitan clasificar el artículo en una base de datos.

Estas palabras deberán de incluirse en Español y en Inglés (**Key words**):

5. Si el texto inicia con el nombre de algún subtema, éste se pondrá como primera línea en *cursivas* con letra Arial o equivalente tamaño **10**. Después en el siguiente renglón se iniciará el texto descriptivo usando letra Arial o equivalente tamaño **10**. El texto deberá ser escrito con un interlineado de 1.5 renglones. Se deberá dejar un espacio de un renglón al inicio de una sección o subtema nuevo. Los géneros y especies deberán escribirse en letras itálicas.

6. Las figuras deberán numerarse con arábigos, correlativamente en orden de aparición en el texto. No se integrarán al texto, sino al final del manuscrito. No obstante, para facilitar el trabajo de edición, se recomienda indicar la ubicación de las mismas en el momento en que son mencionadas por primera vez en el texto. Las figuras deben incluir un breve título explicativo en la parte inferior de la misma. Si es necesario incluir fotos, éstas se deberán designar como figuras. La impresión de las figuras e imágenes se hará en blanco y negro, por lo que se recomienda que muestren un buen contraste, en especial las figuras con varias líneas. Según el orden de aparición en el texto, las tablas también se numerarán con arábigos ubicados en la parte superior de las mismas e incluirán un breve título explicativo. Las notas en las tablas deberán ser indicadas con letras minúsculas en superíndice. La ubicación de las tablas será señalada en el texto pero se anexarán en hojas separadas después de las **Referencias**.

7. La información dada como referencias bibliográficas deberá permitir a los lectores llegar con facilidad a tal fuente de información original, si ello fuera necesario. En el texto del trabajo, las referencias se citan por autor y año entre paréntesis redondos. Por ejemplo: "Martínez & García (1999) han demostrado que...", o bien, "Datos recientes (Martínez & García, 1999) han demostrado que...". Si la cita posee varios autores se escribiera como sigue: "Gutiérrez *et al.*, (2003), han demostrado..." O bien: "Datos recientes (Gutiérrez *et al.*, 2003) han mostrado..." Si la cita es es una página de Internet, ésta deberá ponerse completa entre

# Instrucciones para los autores

paréntesis directamente en el texto donde se mencione. La lista de **Referencias** se deberá escribir con el mismo tipo de letra del texto principal (Arial tamaño **10**) de acuerdo al siguiente formato:

## **Para revistas:**

García-Carreño F, Cota K & Navarrete del Toro MA (2008) Phenoloxidase activity of hemocyanin in whiteleg shrimp, *Penaeus vannamei*: conversion, characterization of catalytic properties, and role in postmortem melanosis. *J. Agric. Food Chem.* 56: 6454-6459.

## **Para libros y capítulos de libros:**

(Libro)

Ullrich M (2009) Bacterial Polysaccharides: Current Innovations and Future Trends. Horizon Scientific Press, Norwich.

(Capítulo de libro)

Sánchez S & Demain AL (2009) Metabolic regulation and overproduction of primary metabolites. *In: Encyclopedia of Industrial Biotechnology. Bioprocess, Bioseparation, and Cell Technology (EIB)*. Flickinger MC (ed). John Wiley & Sons, Inc. Hoboken, NJ. pp. 396-458.

## **Para patentes:**

Fenical WH, Jensen PR & Kwon HC (2009) Polyol macrolide antitumor-antibiotics from the marine actinomycete strain CNQ140. US patent 7,521,414.

**Para congresos y reuniones:** *Se aceptarán un máximo de dos citas de este tipo.*

Reyes N, Domínguez RM, Islas I & Solis S (2007) Inducción diferencial por pH y temperatura del Complejo pectinolítico producido por células inmovilizadas de *Aspergillus HL*. XII Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería. Morelia Mich. México. OIII-12.

**Para citas provenientes de internet:** *Se aceptará un máximo de dos citas de este tipo.*

Van Deuren J, Wang Z & Ledbetter J (1997) Remediation Technologies Screening Matrix and Reference Guide. 3<sup>a</sup> Ed. *Technology Innovation Office, EPA*. Disponible en: <http://www.epa.gov/tio/remed.htm>.

## **Revistas electrónicas:**

Sun J, Lu X, Rinas U, & Zeng AP (2007) Metabolic peculiarities of *Aspergillus niger* disclosed by comparative metabolic genomics. *Genome Biol.* 8: R182.

## **Para tesis de pre y posgrado:**

# Instrucciones para los autores

Cárdenas C (2009) Evaluación del uso biotecnológico de la semilla de *Ditaxis heterantha* para la Producción de safranal. Tesis de Maestra en Ciencias Bioquímicas. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F. pp. 1-78.

Cada autor es responsable de la precisión de las citas que emplea. Las citas de internet, congresos y reuniones, deberán evitarse al máximo.

Una vez que ha sido revisado y aceptado su trabajo, los autores deberán enviar una carta de cesión de los Derechos de Autor, de manera que la Sociedad Mexicana de Biotecnología y Bioingeniería pueda hacer uso del artículo aceptado, o parte de él, con fines de divulgación y difusión de la actividad científica y tecnológica. En ningún caso, dichos derechos afectan la propiedad intelectual que es propia de los autores, para usar la totalidad o parte de ese artículo con fines no lucrativos.

Los trabajos solamente se reciben vía correo electrónico en la dirección [smbiotec@yahoo.com.mx](mailto:smbiotec@yahoo.com.mx). Al momento de recibirlo, se enviará un acuse de recibo al autor correspondiente, por lo que se pide incluir una dirección de correo electrónico para este fin, así como para mantener comunicación con el editor sobre la evolución de la revisión y sobre la aceptación del mismo.

Una vez aceptados, los trabajos son editados y enviados a los autores para su corrección. En esta condición no se permitirán cambios sustanciales en el contenido de los mismos sin la aprobación del editor en jefe. Una vez aprobada la prueba, el trabajo se publicará en línea y podrá ser consultado en la página de la Sociedad Mexicana de Biotecnología y Bioingeniería AC <http://www.smbb.com.mx/>. La publicación en línea precederá a la publicación impresa.

## Actividades Enzimáticas de Hongos para el Pre-tratamiento de Residuos Lignocelulósicos

Peggy Elizabeth Álvarez-Gutiérrez\*, Zazil Corzo-González, Gustavo Yañez-Ocampo y Yolanda del Carmen Pérez-Luna

*Universidad Politécnica de Chiapas. Calle Eduardo J. Selvas S/N. Col. Magisterial C.P. 29010. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. Tel. 01961 61 204 84 ext.218*

\*E-mail: [peggy.alvarez@hotmail.com](mailto:peggy.alvarez@hotmail.com)

### RESUMEN

Chiapas es a nivel nacional uno de los estados con mayor actividad agrícola, como consecuencia de esta actividad se generan anualmente toneladas de residuos agroindustriales (ricos en biomasa lignocelulósica). Una alternativa para el aprovechamiento de estos residuos es la producción de biocombustibles. Sin embargo, el principal factor limitante para su uso es la composición de la pared celular vegetal hecha de celulosa, hemicelulosa y lignina, ya que por su estructura química ofrece resistencia a la biodegradación. El uso de hongos es una opción para el pre-tratamiento de los residuos agroindustriales, ya que poseen enzimas lignocelulolíticas agrupadas en celulasas, hemicelulasas y ligninasas. Estas enzimas representan la clave para emplearse en procesos biotecnológicos que usen la biomasa vegetal como materia prima para mejorar el rendimiento de productos de biocombustibles, alimentos, textiles, papel, biorremediación entre otros. En este documento se presenta una revisión de las principales actividades enzimáticas producidas por hongos de la pudrición blanca para el pre-tratamiento de la biomasa lignocelulósica abundante en el estado de Chiapas.

**Palabras clave:** biomasa lignocelulósica; residuos agroindustriales de Chiapas; celulasas; hemicelulasas; ligninasas.

### ABSTRACT

At the national level, Chiapas is one of the states with higher agriculture activity and because of this, tons of agro-industrial residues (rich in lignocellulosic biomass) are generated. One alternative for these residues utilization is biofuel production. However, one of the main handicaps for their utilization is the plant cell wall composition. The cell wall is made up of cellulose, hemicellulose and lignin, which due to their chemical structure, are materials naturally resistant to biodegradation. Fungi represent an alternative for pretreatment of agro-industrial residues since they produce lignocellulolytic enzymes grouped as cellulases, hemicellulases and

ligninas. These enzymes are key factors for biotechnological processes that employ plant biomass as a raw material to improve the yield of products like biofuels, foods, textiles, paper and bioremediation, among others. In this paper, a review on the main enzymatic activities produced by the white rot fungus for pre-treatment of the abundant lignocellulosic biomass in Chiapas, is presented.

**Key words:** lignocellulosic biomass, Chiapas agro-industrial residues, cellulases, hemicellulases, ligninas

## INTRODUCCIÓN

A nivel nacional Chiapas, ocupa el primer lugar en producción de café cereza y palma de aceite, quinto lugar en maíz y sexto lugar en caña de azúcar (SIAP, 2013). Como consecuencia de la intensa actividad

agrícola, se generan residuos agroindustriales derivados de la transformación agroindustrial. Las estimaciones indican que mas del 40% del total de la producción se convierte en residuo (Tabla 1).

**Tabla 1.** Cultivo, producción anual y estimación de residuos agroindustriales en Chiapas

Cultivo	Producción anual (ton)	Índice de residuo de cultivo	Estimación de residuos agroindustriales (ton)
Café	499,105.16	0.24	119,785.23
Palma de aceite	382,541.67	N.D	N.D
Maíz	1,529,385.18	0.30	458,815.55
Caña de azúcar	2,931,356.98	0.15	439,703.55

Obtenido de: SIAP, 2013; Valdez-Vazquez *et al.*, 2010. N.D. No disponible

La agroindustria del café utiliza únicamente el 9.5% de biomasa aprovechable y el 90.5% restante son residuos, mientras que la industria del aceite de palma utiliza el 9% y el 91% restante es residuo (Saval, 2012). Estos materiales, por su composición también son conocidos como biomasa lignocelulósica cuyos principales componentes son la celulosa, hemicelulosa y

lignina; la proporción de cada uno es diferente en función del origen del residuo agrícola (Rubin, 2008). Esta biomasa podría ser aprovechada para la producción de biocombustibles como metano (Fidel *et al.*, 2014) y etanol (Aldana *et al.*, 2014).

La biomasa lignocelulósica ofrece resistencia a la biodegradación, el cual es un factor limitante si se desea aprovechar para

producir etanol. Los organismos que llevan a cabo la fermentación alcohólica en general carecen de la capacidad para degradar madera. En contraste, los microorganismos mejor estudiados responsables de la transformación de biomasa lignocelulósica son los hongos ligninocelulolíticos, particularmente los hongos de la podredumbre blanca, debido a que poseen enzimas extracelulares capaces de hidrolizar y transformar a los principales componentes de la biomasa lignocelulósica. El estudio de la actividad enzimática celulasa, hemicelulasa y ligninasa es la clave en los procesos de pre-tratamiento la biomasa lignocelulósica a fin de aumentar el rendimiento en la producción de etanol. Los pretratamientos químicos que actualmente se utilizan requieren de la inversión de energía, además de presentar inconvenientes desde el punto de vista ambiental, por lo que el pre-tratamiento es la etapa más costosa del proceso, aproximadamente el 33% del costo total (Martins *et al.*, 2011).

El así como la exploración de la biodiversidad fúngica y de su potencial enzimático es de vital importancia para incrementar la eficiencia de conversión enzimática de la biomasa lignocelulósica en sus principales monómeros de carbohidratos fermentables (Arantes *et al.*, 2012). Por lo antes descrito, en el presente reporte se abordarán las principales actividades enzimáticas de los hongos de la

podredumbre blanca sobre residuos agroindustriales ricos en biomasa lignocelulósica con potencial biotecnológico para su uso en el pretratamiento de residuos agroindustriales abundantes en el estado de Chiapas.

## **APROVECHAMIENTO DE RESIDUOS AGROINDUSTRIALES**

Los residuos son materiales en estado sólido o líquido 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 y/o social (Saval, 2012).

Particularmente los residuos agroindustriales pueden ser aprovechados entre otros, como materia prima para la producción de etanol. A partir de residuos del bagazo de caña se ha observado que tiene el potencial de producción de etanol de entre 33 mil y 260 mil m<sup>3</sup> al año (Orozco *et al.*, 2014). Para Chiapas, el bagazo de caña de azúcar del ingenio de Pujilic y Huixtla tiene el potencial para ser usado en la producción de biocombustibles (Valdez-Vazquez *et al.*, 2010). Además, dos residuos abundantes en Chiapas son el cascabillo de palma de aceite y la pulpa de café están compuestos de material lignocelulósico por lo que pueden ser utilizados también para este fin (Tabla 2).

**Tabla 2.** Composición de residuos lignocelulósicos:

Residuo	Celulosa (%)	Hemicelulosa (%)	Lignina (%)	Referencia
Bagazo de caña	35.31	24.01	22.85	(Bizzo <i>et al.</i> , 2014)
Pulpa de café	63.00	2.30	17.50	(Murthy & Naidu, 2012)

## COMPOSICIÓN Y ESTRUCTURA QUÍMICA DE LA BIOMASA LIGNOCELULÓSICA

La biomasa lignocelulósica es producida por la acción fotosintética de las plantas, representa la fuente orgánica renovable más abundante del Planeta (Quiroz-Castañeda *et al.*, 2011). La lignocelulosa se encuentra en las paredes celulares de las plantas y está compuesta principalmente por tres polímeros: celulosa, hemicelulosa y lignina (Figura 1 y Tabla 3). Existe un entrecruzamiento entre la celulosa, hemicelulosa y lignina para conformar la pared celular (Prinsen, 2010).

La celulosa es el biopolímero más abundante de la Tierra, consiste en cadenas lineales de aproximadamente 8,000 a 12,000 residuos de glucosa, unidas por enlace  $\beta$  1 $\rightarrow$ 4. Un residuo de glucosa es la unidad monomérica de la celulosa, mientras que el dímero de la celobiosa es la unidad estructural repetitiva de la cadena. La celulosa está formada por regiones cristalinas y amorfas. En la región cristalina, las cadenas de celulosa se encuentran estabilizadas por puentes de hidrógeno y fuerzas de Van der Waals, resultando microfibrillas, que son agregados muy extensos y cristalinos. La región amorfa está

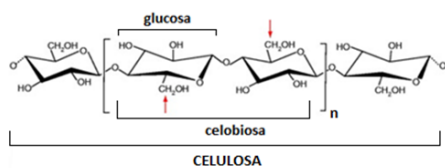
formada por cadenas de celulosa con organización más débil. Todas las cadenas de celulosa se encuentran polarizadas, tiene un extremo reductor y otro no reductor (Martins *et al.*, 2011).

La hemicelulosa es el segundo componente más abundante en la biomasa lignocelulósica (Rubin, 2008). A diferencia de la celulosa, la hemicelulosa es un heteropolisacárido no cristalino, de estructura compleja, compuesto por varios monómeros tales como pentosas ( $\beta$ -D-xilosa,  $\alpha$ -L-arabinosa), hexosas ( $\beta$ -D-manosa,  $\beta$ -D-glucosa,  $\alpha$ -D-galactosa), y/o ácidos urónicos ( $\alpha$ -D-glucurónico,  $\alpha$ -D-4-O-metilgalacturónico y  $\alpha$ -D-ácido galacturónico) y xilano (Martins *et al.*, 2011). El xilano es el principal componente de la hemicelulosa, contribuye con el 70% de ésta estructura (Dashtban *et al.*, 2009). El xilano consta de una cadena principal de xilopiranososa (xilosa), unidos por enlace  $\beta$  1 $\rightarrow$ 4, con ramificaciones de unidades de azúcares y grupos acetilo (Martins *et al.*, 2011).

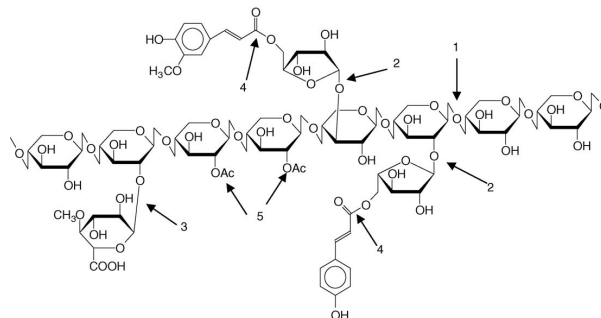
La lignina es una fuente renovable de polímero aromático que se encuentra en la naturaleza. Debido a su compleja y heterogénea estructura, es químicamente

# Artículos

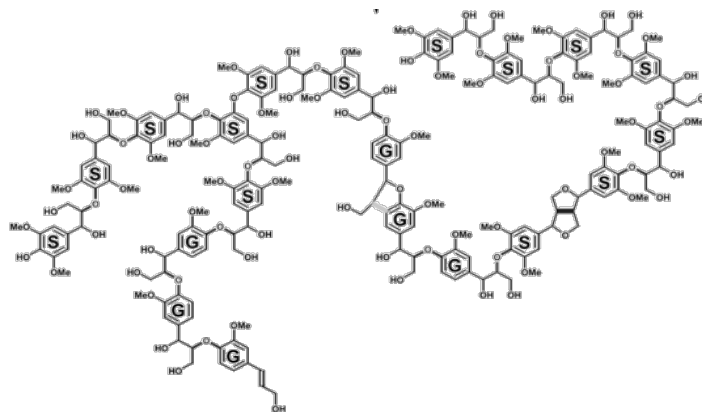
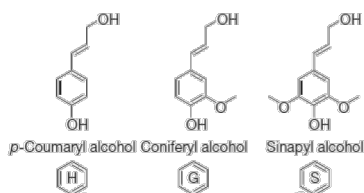
A.



B.



C.



**Fig. 1.** Estructura química de la biomasa lignocelulósica: A. Celulosa B. Hemicelulosa (1. endoxilanasas, 2. arabinofuranosidasas, 3. glucuronidasas, 4. feruloil esterases, 5. Acetil xilano esterases) y C. Lignina. Modificado de: Alonso *et al.*, 2010; Martins *et al.*, 2011, Rubin 2008.

recalcitrante a la descomposición por la mayoría de los microorganismos (Martins *et al.*, 2011). Este heteropolímero amorfo consiste en tres unidades repetitivas de derivados de alcohol diferentes: alcohol *p*-cumaril, alcohol coniferil y alcohol sinapil (Quiroz-Castañeda *et al.*, 2011).

## HONGOS DEGRADADORES DE BIOMASA LIGNOCELULÓSICA

La descomposición biológica de los

materiales lignocelulósicos, desempeña un papel esencial en el ciclo de carbono en ecosistemas terrestres y forestales. Existen microorganismos capaces de degradar la estructura recalcitrante de la lignina, a monómeros de carbohidratos solubles y fermentables. Entre ellos destacan los hongos, tanto los de pudrición blanca y como hongos de pudrición café (Arantes *et al.*, 2012). Chiapas es una región mega diversa en donde se pueden encontrar una gran

# Artículos

**Tabla 3.** Características de la composición bioquímica de la biomasa lignocelulósica

Componente	Unidad Monomérica	Enlace	Características
Celulosa	Glucosa	$\beta$ 1→4	Proporciona rigidez a la pared celular. La cadena de polímeros de celulosa es insoluble y forman microfibrillas cristalinas, que hacen que los azúcares sean de difícil acceso. La región amorfa de la celulosa es mas susceptible a la hidrólisis enzimática.
Hemicelulosa	Xilosa	$\beta$ 1→4	Une las fibras de celulosa en microfibrillas y forma enlaces cruzados con la lignina, creando una red compleja de enlaces que proveen una fuerza estructural. Es insoluble en agua, pero se disuelve en medio alcalino.
	Arabinosa		
	Glucosa		
	Manosa		
	Galactosa		
Lignina	Ácidos urónicos	$\beta$ 1→3	Proporciona resistencia a la pared celular frente a insectos y patógenos, con la hemicelulosa forma una matriz alrededor de la celulosa; es el material mas recalcitrante. Desempeña funciones de transporte de agua, nutrientes y metabolitos en el sistema vascular
	p-Cumaril		
	Coniferil		
	Sinapil	$\beta$ -5	

Obtenido de: Zhao *et al.*, 2012; Quiroz-Castañeda *et al.*, 2011; Prinsen 2010; Alonso *et al.*, 2010; Rubin 2008; Martins *et al.*, 2011.

variedad de hongos de pudrición blanca tales *Auricularia auricula*, *Cookeina sulcipes*, *Cookeina tricholoma*, *Earliella scabrosa*,

*Ganoderma*, *Picnoporus sanguineus*, *Pleurotus ostreatus*, *Ramaria* sp., *Schizophyllum commune*, *Trametes* sp. entre

# Artículos

otros (Chanona-Gómez *et al.*, 2007, Shepard *et al.*, 2008, Martínez-Carrera 2010, Chanona-Gómez *et al.*, 2014). Estas especies tienen actividades enzimáticas que les permiten degradar la biomasa. Diversos

autores han descrito a estos hongos en otras partes del mundo y han reportado estas actividades y sus aplicaciones biotecnológicas (Tabla 4). Los hongos de pudrición blanca, tienen la

**Tabla 4.** Enzimas lignocelulolíticas de hongos de pudrición blanca

Taxa	Enzima	Interés	Referencia
<i>Auricularia auricula</i>	Manganeso peroxidasa	Comestible, Biotecnológico	Liers <i>et al.</i> , 2010
<i>Cookeina sulcipes</i>	Lacasa, celobiosa hidrogenasa	Comestible	Chaparro <i>et al.</i> , 2009
<i>Cookeina tricholoma</i>	Lacasa, celobiosa hidrogenasa	Comestible, Lúdica	Chaparro <i>et al.</i> , 2009
<i>Earliella scabrosa</i>	Celobiosa hidrogenasa, lacasa	Antifúngico	Chaparro <i>et al.</i> , 2009 Peng & Don, 2013
<i>Ganoderma lucidum</i>	Lacasa galactosidasa	Medicinal (antiviral, hipoglicémico, hipocolesterolémico, antitumoral, entre otros) Quimiopreventivo (Actividad Anti-HIV)	Songulashvili <i>et al.</i> , 2011 Sripuan <i>et al.</i> , 2003 Chen & Miles, 1996 Chang, 1996 Kim <i>et al.</i> , 1996
<i>Picnoporus sanguineus</i>	Manganeso peroxidasa, lacasa, lignina peroxidasa	Biotecnológico (Decoloración de colorantes sintéticos)	Gomes <i>et al.</i> , 2009
<i>Pleorotus ostreatus</i>	Lacasa, manganeso	Comestible,	Dávila-Vázquez <i>et al.</i> ,

# Artículos

	peroxidasa, lignina peroxidada.	Biotecnológico (bioremediación),  Medicinal (antiviral, hipocolesterolémico, antitumoral, entre otros)	2005  Singh <i>et al.</i> , 2013  Mori <i>et al.</i> , 1987  Mikiashvili <i>et al.</i> , 2006  Nandal <i>et al.</i> , 2013  Martins <i>et al.</i> , 2011
<i>Ramaria sp</i>	Lacasa	Biotecnológico	Chaparro <i>et al.</i> , 2009
<i>Schizophyllum commune</i>	Magnesio peroxidasa, lignina peroxidasa, acetil xilan esterasa	Comestible	Irshad & Asgher, 2011  Buruiană <i>et al.</i> , 2013
<i>Trametes sp</i>	Lacasa, celobiosa hidrogenasa	Biotecnológico	Chaparro <i>et al.</i> ,  2009

capacidad de degradar la lignina y mineralizarla a CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O (Arora & Sharma, 2010) a partir de enzimas como la lignina peroxidasa (LiP), manganeso peroxidasa (MnP), lacasa (Ponce *et al.*, 2012). Los hongos de pudrición café degradan celulosa y hemicelulosa (Arora & Sharma, 2010), siendo capaces de modificar la estructura química y composición de la lignina en la pared celular de la biomasa lignocelulósica a través de reacciones de oxidación, creando el acceso a los componentes de dicha pared, sin embargo no la degradan completamente (Arantes *et al.*, 2012).

## ENZIMAS FUNGICAS DEGRADADORAS DE BIOMASA

Las enzimas hidrolíticas catalizan la hidrólisis de varios enlaces, introduciendo elementos del agua, H<sup>+</sup> y OH<sup>-</sup>, produciendo así su rompimiento. Se denominan de acuerdo con el nombre de su sustrato seguido del sufijo -asa. Para la degradación de la biomasa lignocelulósica se necesitan de enzimas celulolíticas, hemicelulolíticas y ligninolíticas (Figura 2).

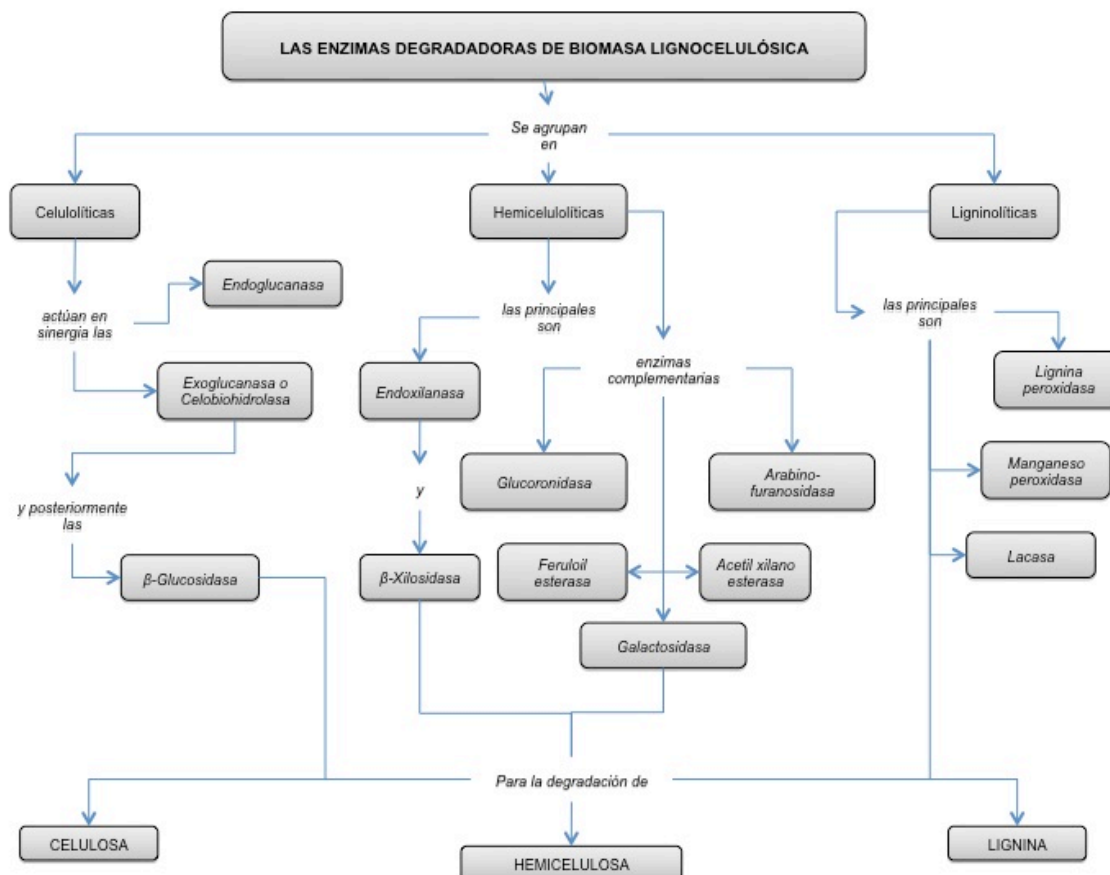
### ENZIMAS CELULOLÍTICAS

Las enzimas celulolíticas actúan en sinergia para la degradación de celulosa. Este sistema enzimático, incluye tres tipos de celulasas: a) Las endoglucanasas (E.C.3.2.1.4) inician el ataque de forma aleatoria en múltiples sitios internos de las regiones amorfas de la fibra de celulosa, que

# Artículos

abre sitios para el subsecuente ataque de las celobiohidrolasas. b) Las celobiohidrolasas (E.C.3.2.1.91) también conocidas como exoglucanasas, eliminan un disacárido

conocido como celobiosa de ambos lados de la cadena de glucano de la región cristalina de la celulosa. c) La  $\beta$ -



**Fig. 2.** Las enzimas fúngicas degradadoras de biomasa lignocelulósica

glucosidasa (E.C.3.2.1.21) hidroliza la celobiosa y en algunos casos celooligosacáridos de cadena corta a glucosa (Dashtban *et al.*, 2009, Martins *et al.*, 2011; Ratanakhanokchai *et al.*, 2013). En la Figura 3 se presentan las principales enzimas celulolíticas y en la Tabla 5 se presentan las reacciones generales con la fórmula química de los sustratos y los productos de reacción,

además del pH y la temperatura óptima descritos por diversos autores.

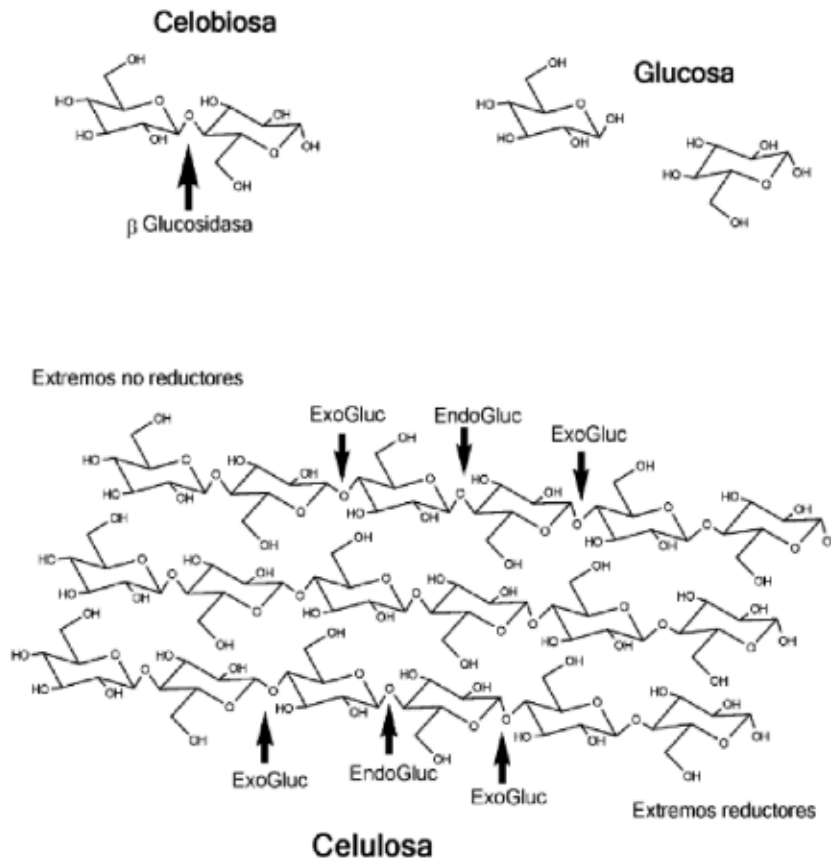
## ENZIMAS HEMICELULOLÍTICAS

La ruptura hidrolítica de la hemicelulosa requiere al menos de siete enzimas, debido a la heterogeneidad del compuesto.

Su completa degradación requiere la acción cooperativa de enzimas hidrolíticas

llamadas hidrolasas (Dashtban *et al.*, 2009). Las xilanasas se clasifican según la acción con los sustratos: endo-1,4- $\beta$ -xilanasas (E.C.3.2.1.8) genera xilo-oligosacáridos al hidrolizar los enlaces  $\beta$  1 $\rightarrow$ 4 glucosídicos de la cadena principal del xilano; mientras que

1,4- $\beta$ -xilosidasa (E.C.3.2.1.37) produce xilosa de xilobiosa y de cadena cortas de xilo-oligosacáridos. Además, de la degradación del xilano se necesita enzimas accesorias tales como  $\alpha$ -L-arabinofuranosidasa (E.C.3.2.1.55) que elimina L-arabinosa de



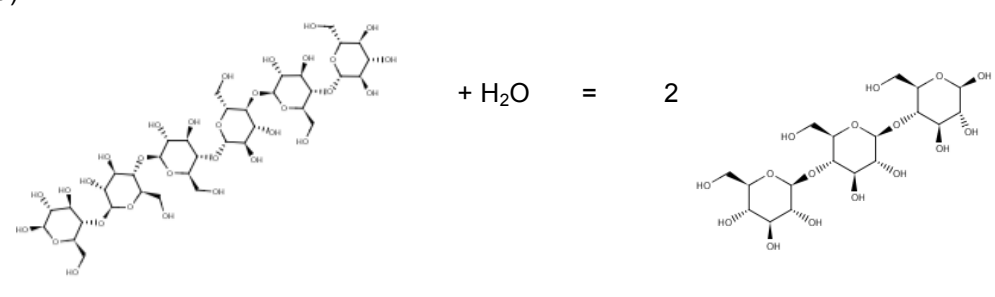
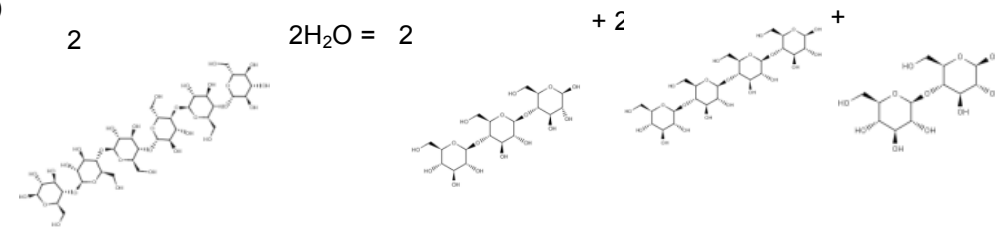
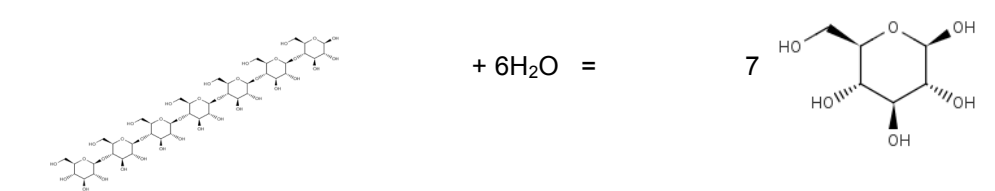
**Fig. 3.** Enzimas celulolíticas (ExoGlu: Exoglucanasa, EndoGlu: Endoglucanasa). Modificado de Ratanakhanokchai *et al.*, 2013.

las cadenas laterales de xilosa;  $\alpha$ -glucoronidasa (EC 3.2.1.39) es una de las hemicelulasas mas comunes, hidroliza los enlaces glucosídicos  $\alpha$  1 $\rightarrow$ 2 entre residuos de ácido glucurónico y unidades de cadena principal del glucuronoxilano; acetil xilano

esterasa (E.C.3.1.1.72) elimina los grupos O-acetil de posiciones 2 y/o 3 entre los ácidos glucurónicos y la  $\beta$ -D-xilanopinosil, unidades encontradas en la cadena del glucuronoxilano; esterasa del ácido ferulico (E.C.3.1.1.73) presenta un papel clave en

# Artículos

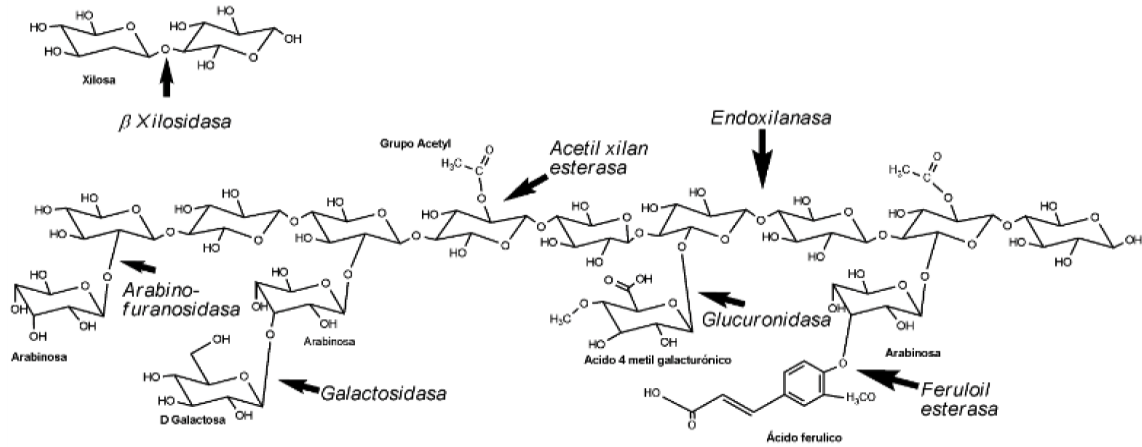
**Tabla 5.** Reacciones generales de las enzimas celulolíticas

Enzima	Reacción
<p>Celulasa (endoglucanasa)</p> <p>E.C. 3.2.1.4</p> <p>pH óptimo: 5<sup>a</sup></p> <p>Temperatura óptima: 50°C<sup>a</sup></p>	<p>Celohexosa + H<sub>2</sub>O = 2 celotriosa</p> 
<p>Celobiohidrolasa (exoglucanasa)</p> <p>E.C. 3.2.1.91</p> <p>pH óptimo: 5<sup>b</sup></p> <p>Temperatura óptima: 40°C<sup>b</sup></p>	<p>2 Celohexosa + 2H<sub>2</sub>O = 2 celotriosa + 2 celotetraosa + celobiosa</p> 
<p>β-glucosidasa</p> <p>E.C. 3.2.1.21</p> <p>pH óptimo: 5<sup>c</sup></p> <p>Temperatura óptima: 50°C<sup>c</sup></p>	<p>Celoheptosa + 6H<sub>2</sub>O = 7 β-D-glucosa</p> 

el incremento de la hidrólisis enzimática, permite la accesibilidad de las fibras de la celulosa debido a la eliminación del ácido ferúlico de las cadenas laterales; la α-

galactosidasa (E.C.3.2.1.22) elimina residuos de galactosa (Ratanakhanokchai *et al.*, 2013, Martins *et al.*, 2011). Ver Figura 4 y Tabla 6.

# Artículos



**Fig. 4.** Enzimas hemicelulolíticas. Modificado de Ratanakhanokchai *et al.*, 2013.

**Tabla 6.** Reacciones generales de las enzimas hemicelulolíticas

Enzima	Reacción
<p>endo-1,4-<math>\beta</math>-xilanasa</p> <p>E.C. 3.2.1.8</p> <p>pH óptimo: 5<sup>a</sup></p> <p>Temperatura óptima: 50°C<sup>a</sup></p>	$(Xyl\beta(1-4))_n + H_2O = (Xyl\beta(1-4))_{n-m} + (Xyl\beta(1-4))_m$
<p>1,4-<math>\beta</math>-xilosidasa</p> <p>E.C. 3.2.1.37</p> <p>pH óptimo: 5<sup>b</sup></p> <p>Temperatura óptima: 55°C<sup>b</sup></p>	$(Xyl\beta(1-4))_x + H_2O = \beta\text{-D-xilopyranosa} + (Xyl\beta(1-4))_{x-1}$

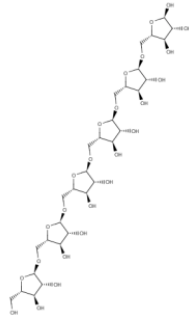
# Artículos

$\alpha$ -L-arabinofuranosidasa      1,5- $\alpha$ -L-arabinofuranohexosa      + 5H<sub>2</sub>O =      6  $\alpha$ -L-arabinofuranosa

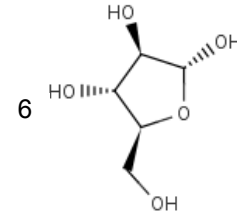
E.C. 3.2.1.55

pH óptimo: 4<sup>c</sup>

Temperatura  
óptima: 60°C<sup>c</sup>



+ 5H<sub>2</sub>O =

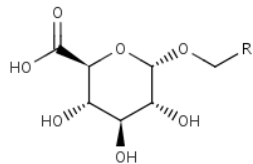


$\alpha$ -glucuronidasa       $\alpha$ -glucuronoside      + H<sub>2</sub>O +      alcohol      =       $\alpha$ -D-glucuronato

E.C. 3.2.1.139

pH óptimo: 4.8<sup>d</sup>

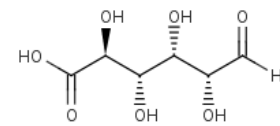
Temperatura  
óptima: 40°C<sup>d</sup>



+ H<sub>2</sub>O +



=

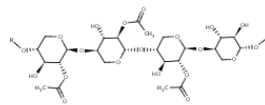


Acetil xilano      acetil xilano      + 3 H<sub>2</sub>O =      3 ácido acético +      xilano  
esterasa

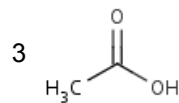
E.C. 3.1.1.72

pH óptimo: 7.7<sup>e</sup>

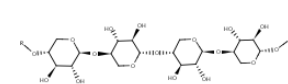
Temperatura  
óptima: 30°C<sup>e</sup>



+ 3 H<sub>2</sub>O =



+



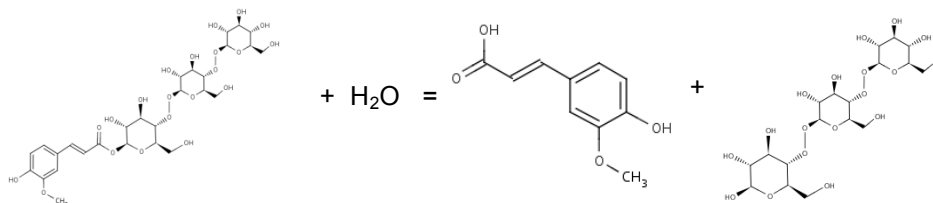
# Artículos

Feruloil esterasa    Feruloil-polisacárido    + H<sub>2</sub>O =    ferulato    +    polisacárido

E.C. 3.1.1.73

pH óptimo: 4<sup>f</sup>

Temperatura  
óptima: 50°C<sup>f</sup>

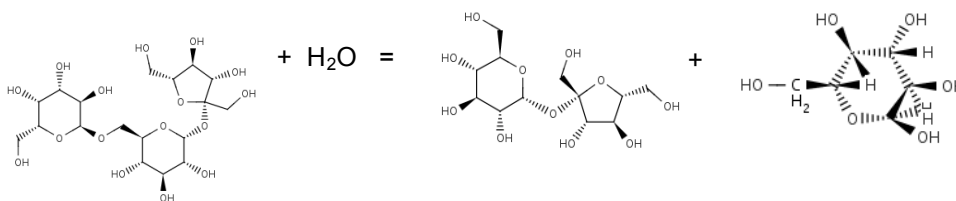


α-Galactosidasa    Rafinosa    + H<sub>2</sub>O =    sacarosa    +    α-D-galactopiranososa

E.C. 3.2.1.22

pH óptimo: 6<sup>g</sup>

Temperatura  
óptima: 70°C<sup>g</sup>



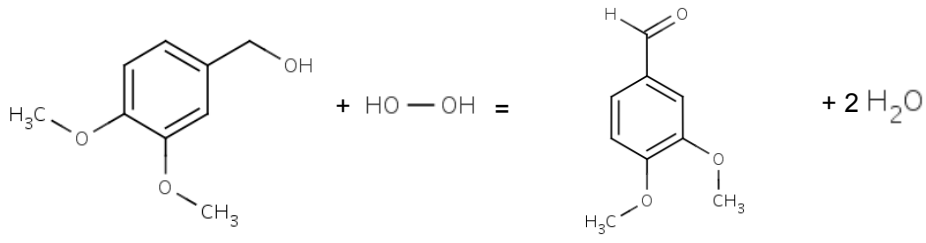
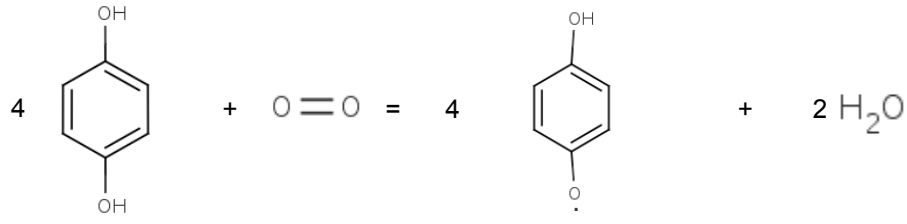
<sup>a,e</sup>*Schizophyllum commune*, <sup>b</sup>*Trichoderma sp.*, <sup>c,f</sup>*Aspergillus niger*, <sup>d</sup>*Pleurotus ostreatus*,  
<sup>g</sup>*Ganoderma lucidum*. Obtenido de: Schomburg, 2014.

## ENZIMAS LIGNINOLÍTICAS

Las principales enzimas de la lignina son: lacasa, lignina peroxidasa (LiP) y manganeso peroxidasa (MnP) (Nandal *et al*, 2013) (Tabla 7). La lacasa (E.C. 1.10.3.2) es una proteína multicobre perteneciente a la familia de las enzimas oxidasa azul, se clasifica como una fenoloxidasas y cataliza la oxidación de diversos compuestos aromáticos e inorgánicos (fenoles en particular), al mismo tiempo reduce el oxígeno a agua; los colorantes fenólicos, fenoles, clorofenoles, algunos difenilmetanos y benzopirenos son sustratos oxidados por

esta enzima; la enzima lacasa puede degradar la lignina incluso en ausencia de otras ligninasas, tales como MnP y LiP. La lignina peroxidasa (E.C. 1.11.1.14) es una glicoproteína que tiene un grupo prostético con actividad catalítica dependiente del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, es una enzima capaz de oxidar diversos compuestos aromáticos no fenólicos, tales como alcohol bencílico, la escisión de las cadenas laterales de estos compuestos, catalizando reacciones de la apertura del anillo aromático, demetoxilación y decoloración oxidativa. La manganeso peroxidasa (E.C. 1.11.1.13) es una enzima

**Tabla 7.** Reacciones generales de las enzimas ligninolíticas

Enzima	Reacción
<p>Lignina peroxidasa</p> <p>E.C. 1.11.1.14</p> <p>pH óptimo: 2.5<sup>a</sup></p> <p>Temperatura óptima: 25°C<sup>a</sup></p>	<p>(3,4-dimetoxifenil)metanol + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> = 3,4 dimetoxibenzaldehído + 2 H<sub>2</sub>O</p> 
<p>Manganeso peroxidasa</p> <p>E.C. 1.11.1.13</p> <p>pH óptimo: 5<sup>b</sup></p> <p>Temperatura óptima: 60°C<sup>b</sup></p>	<p>2 Mn(II) + 2 H<sup>+</sup> + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> = 2 Mn(III) + 2 H<sub>2</sub>O</p> <p>2 Mn<sup>2+</sup> + 2 H<sup>+</sup> + HO — OH = 2 Mn<sup>3+</sup> + 2 H<sub>2</sub>O</p>
<p>Lacasa</p> <p>E.C. 1.10.3.2</p> <p>pH óptimo: 3.5<sup>c</sup></p> <p>Temperatura óptima: 20°C<sup>c</sup></p>	<p>4 bencenodiol + O<sub>2</sub> = 4 benzosemiquinona + 2 H<sub>2</sub>O</p> 

<sup>a</sup>*Pleurotus ostreatus*, <sup>b</sup>*Schizophyllum commune*, <sup>c</sup>*Ganoderma lucidum*. Obtenido de: Schomburg, 2014.

extracelular glicosilada que tiene un grupo prostético hemo, el mecanismo de reacción de la MnP es similar a la LiP, pero en éste caso los compuestos I y II de MnP oxidan Mn<sup>+2</sup> (Martins *et al.*, 2011). Los productos de

reacción de las peroxidasa y lacasa, son tóxicos para los microorganismos etanológicos, por lo que deben ser eliminados (Saval, 2012).

# Artículos

Los hongos de pudrición blanca y café contienen actividades enzimáticas capaces de degradar celulosa, lignina y hemicelulosa para producir compuestos más simples con extremos reductores. Estos productos de degradación son fermentables, por lo tanto, pueden convertirse en materia prima para realizar bioprocesos con las ventajas de su abundancia, bajo costo y ser ambientalmente adecuados. Es decir, se puede producir etanol, metano y otros productos a partir de biomasa lignocelulolítica con residuos agroindustriales que hayan sido pretratados. El uso biotecnológico de los hongos lignocelulolíticos es una alternativa viable para contribuir a la producción eficiente de biocombustibles utilizando residuos como materias primas.

## CONCLUSIONES

Los residuos agroindustriales como el bagazo de caña, palma de aceite y pulpa de café generados en Chiapas por su alto contenido en lignina, celulosa y hemicelulosa requieren de un tratamiento previo a su aprovechamiento para la producción de bioetanol entre otros metabolitos de interés biotecnológico. Los hongos de la pudrición blanca nativos del estado de Chiapas, por su naturaleza y los sustratos en donde crecen, pueden tener enzimas de tipo hidrolasas y oxidoreductasas como lacasa, manganeso peroxidasa, xilanasas y hemicelulasas. La degradación de lignina, celulosa y

hemicelulosa requiere de la participación en sinergia del complejo enzimático de los hongos revisados en este documento. Lo que representa un recurso de aplicación potencial para el pre-tratamiento y aprovechamiento biotecnológico de residuos agroindustriales generados en el estado de Chiapas.

## REFERENCIAS

- Aldana H, Lozano FJ & Acevedo J (2014). Evaluating the potential for producing energy from agricultural residues in México using MILP optimization. *Biomass Bioenerg* 67: 372–389.
- Alonso DM, Bond JQ & Dumesic JA (2010) Catalytic conversion of biomass to biofuels. *Green Chem.* 12: 1493-1513.
- Arantes V, Jellison J & Goodell B (2012). Peculiarities of brown-rot fungi and biochemical fenton reaction with regard to their potential as a model for bioprocessing biomass. *Appl Microbiol Biotechnol.* 94: 323-338.
- Arora DS, & Sharma RK (2010) Ligninolytic fungal laccases and their biotechnological applications. *Appl Biochem Biotechnol.* 160(6): 1760-1788.
- Bizzo WA, Lenço PC, Carvalho DJ & Veiga JPS (2014). The generation of residual biomass during the production of bio-ethanol from sugarcane, its characterization and its use in energy production. *Renew Sust Energ Rev.* 29: 589-603.

# Artículos

- BRENDA (BRAunschweig ENzyme DAtabase). Disponible en: <http://www.brenda-enzymes.org>. Fecha de consulta: 28 de septiembre del 2014.
- Buruiană C-T, Garrote G & Vizireanu C (2013) Bioethanol production from residual lignocellulosic materials: A review - Part 2. *AUDJG – Food Technol.* 37(1): 25-38.
- Chang RY (1996) Potential application of *Ganoderma* polysaccharides in the immune surveillance and chemoprevention of cancer. In: Royse, D. J. (ed.) *Mushroom Biology and Mushroom Products*. Proceedings of the Second International Congress. 153-160.
- Chanona-Gómez F, Andrade-Gallegos RH, Castellanos-Albores J & Sánchez JE (2007). Macromicetos del parque educativo Laguna Bélgica, municipio de Ocozocoautla de Espinosa, Chiapas, México. *Rev Mex Biodiv.* 78(2): 369-381
- Chanona-Gómez, F, Alvarez-Gutiérrez, PE, Pérez-Luna, Y (2014). Hongos de Chiapas. Guía de campo. Dirección de Publicaciones del Instituto Politécnico Nacional. México DF.
- Chaparro DF, Rosas DC & Varela A (2009) Aislamiento y evaluación de la actividad enzimática de hongos descomponedores de madera (Quindío, Colombia). *Rev Iberoam Micol.* 26(4): 238-243.
- Chen AW & Miles PG (1996) Biomedical research and the application of mushroom nutraceuticals from *Ganoderma lucidum*. In: Royse, D. J. (ed.) *Mushroom Biology and Mushroom Products*. Proceedings of the Second International Congress. 161-175.
- Dashtban M, Schraft H & Qin W (2009) Fungal bioconversion of lignocellulosic residues; opportunities & perspectives. *Int J Biol Sci.* 5(6): 578-595.
- Davila-Vazquez G, Tinoco R, Pickard MA & Vazquez-Duhalt R (2005) Transformation of halogenated pesticides by versatile peroxidase from *Bjerkandera adusta*. *Enzyme Microb Tech.* 36: 223-231.
- Fidel AAA, Fabiel SP, Hilerio SC & Ocampo GY (2014). Potencial bioquímico de metano en la co-digestión anaerobia de estiércol porcino, con residuos agroindustriales en reactores por lote. *Revista AIDIS.* 7(2): 125-133.
- Gomes E, Aguiar AP, Carvalho CC, Bonfá M, da Silva R & Boscolo M (2009) Ligninases production by basidiomycetes strains on lignocellulosic agricultural residues and their application in the decolorization of synthetic dyes. *Braz J Microbiol.* 40: 31-39.
- Irshad M & Asgher M (2011) Production and optimization of ligninolytic enzymes by white rot fungus *Schizophyllum commune* IBL-06 in solid state medium banana stalks. *African Journal of Biotechnology.* 10(79): 18234-18242.
- Kim BK, Kim HW & Choi EC (1996) Medicinal efficacies of *Ganoderma lucidum* (XV) Anti - HIV activities of *Ganoderma Lucidum*. In: Royse, D. J. (ed.) *Mushroom Biology and Mushroom*

# Artículos

- Products*. Proceedings of the Second International Congress. 187-194.
- Liers C, Bobeth C, Pecyna M, Ullrich R & Hofrichter M (2010) DyP-like peroxidases of the jelly fungus *Auricularia auricula-judae* oxidize nonphenolic lignin model compounds and high-redox potential dyes. *Appl Microbiol Biotechnol*. 85: 1869-1879.
- Manavalan T, Manavalan A, Thangavelu KP & Heese K (2013) Characterization of optimized production, purification and application of laccase from *Ganoderma lucidum*. *Biochem Eng J*, 70: 106-114.
- Martínez-Carrera D (2010) Hacia un desarrollo sostenible del sistema de producción-consumo de los hongos comestibles y medicinales en latinoamérica: Avances y perspectivas en el siglo XXI. Red latinoamericana de hongos comestibles y medicinales, producción, desarrollo y consumo. México.
- Martins DAB, Prado HFA, Leite RSR, Ferreira H, Moretti MMS, Silva R & Gomes E (2011) Agroindustrial Wastes as substrates for microbial enzymes production and source of sugar for bioethanol production. *IWM*. 2: 319-361.
- Mikiashvili N, Wasser SP, Nevo E & Elisashvili V (2006) Effects of carbon and nitrogen sources on *Pleurotus ostreatus* ligninolytic enzyme activity. *W. J. Microbiol. Biotechnol*. 22(9): 999-1002.
- Mori K, Toyomasu T, Nanba H & Kuroda H (1987) Antitumor action of fruit bodies of edible mushrooms orally administered to mice. *Mush. J. Tropics*. 7: 121-126.
- Murthy PS & Naidu MM (2012). Sustainable management of coffee industry by-products and value addition. *Resour Conserv Recy*. 66: 45-58.
- Nandal P, Ravella SR & Kuhad RC (2013) Laccase production by *Coriolopsis caperata* RCK2011: optimization under solid state fermentation by Taguchi DOE methodology. *Sci Rep*. 3: 1-7.
- Orozco RS, Hernández PB, Moralez GR, Núñez FU, Villafuerte JO, Lugo VL, Ramírez NF, Díaz CEB & Vázquez (2014). Characterization of lignocellulosic fruit waste as an alternative feedstock for bioethanol production. *BioRes*. 9(2): 1873-1885.
- Pen TY & Don MM (2013) Antifungal activity of *in-vitro* grown *Earliella scabrosa*, a Malaysian fungus on selected wood-degrading fungi of rubberwood. *J Physic Sci*. 24(2): 21-33
- Ponce GI, Vázquez R, Rodríguez R, Medina IE, Lozano JA & Jáuregui J (2012) Evidencia de la biodegradación de resinas fenólicas con hongos ligninolíticos por microscopía electrónica de barrido. *Rev. Int. Contam. Ambie*. 28(2): 159-166.

# Artículos

- Prinsen P (2010) Composición química de diversos materiales lignocelulósicos de interés industrial y análisis estructural de sus ligninas. Trabajo Fin de Máster en “Estudios Avanzados en Química”. Universidad de Sevilla. España. pp. 1-82.
- Quiroz-Castañeda RE, Pérez-Mejía N, Martínez-Anaya C, Acosta-Urdapilleta L & Folch-Mallol J (2011). Evaluation of different lignocellulosic substrates for the production of cellulases and xylanases by the basidiomycete fungi *Bjerkandera adusta* and *Pycnoporus sanguineus*. *Biodegradation*. 22: 565-572.
- Ratanakhanokchai K, Waeonukul R, Pason P, Tachaapaikoon C, Kyu KL, Sakka K, Kosugi A & Mori Y (2013) *Paenibacillus curdlanolyticus* strain B-6 multienzyme complex: A novel system for biomass utilization. In: Biomass now – Cultivation and utilization. InTech, Rijeka. p. 460. Disponible en <http://dx.doi.org/10.5772/51820> /Fecha de consulta 13 de abril 2014.
- Rubin EM (2008) Genomics of cellulosic biofuels. *Nature*. 454(14): 841-845.
- Saval S (2012). Aprovechamiento de residuos agroindustriales: Pasado, presente y futuro. *BioTecnología*. 16(2): 14-46.
- Schomburg, D. 2014. The comprehensive Enzyme Information System. Institut fuer Biochemie und Bioinformatik, Technische Universität Braunschweig. Disponible en: <http://www.brenda-enzymes.org/copy.php> Fecha de consulta: 13 abril 2014.
- Shepard DH, Arora D & Lampman A (2008). The grace of the flood: Classification and use of wild mushrooms among the highland maya of Chiapas. *Economic Botany*. 62(3): 437–470.
- SIAP (2013) Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-estado/> Fecha de consulta: 28 de septiembre del 2014.
- Singh MP, Vishwakarma SK & Srivastava AK (2013) Bioremediation of direct blue 14 and extracellular ligninolytic enzyme production by white rot fungi: *Pleurotus* spp. *BioMed Research International*. 1-4.
- Sripuan TS, Aoki K, Yamamoto K, Tongkao D & Kumagai H (2003) Purification and characterization of thermostable  $\alpha$ -Galactosidase from *Ganoderma lucidum*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 67(7): 1485-1491.
- Valdez-Vazquez I, Acevedo-Benitez JA & Hernández-Santiago C (2010) Distribution and potential of bioenergy resources from agricultural activities in Mexico. *Renew. Sust. Energ. Rev.* 14(7): 2147-2153.
- Zhao XQ, Zi LH, Bai FW, Lin HL, Hao XM, Yue GJ & Ho NWY (2012) Bioethanol from lignocellulosic biomass. *Adv Biochem Engin/Biotechnol*. 128: 25-51.

## Los Alimentos: una Aproximación Proteómica en su Estudio

Jocelin Rizo, Catalina Cárdenas y Romina Rodríguez-Sanoja\*

*Departamento de Biología Molecular y Biotecnología. Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F. 04510.*

E-mail: romina@biomedicas.unam.

### RESUMEN

La proteómica es el estudio a gran escala de las proteínas. Permite tener una imagen dinámica de las proteínas que se están expresando en un momento dado y bajo determinadas condiciones de tiempo y ambiente. Sus principales aplicaciones se han dado dentro del ámbito de la biología y medicina. Sin embargo, el desarrollo de nuevas tecnologías y su aplicación al estudio de matrices complejas ha permitido su incorporación al estudio de alimentos, para la búsqueda de nuevos compuestos bioactivos, evaluación de la seguridad de los alimentos, identificación de biomarcadores de calidad y autenticidad, entre otros. En este trabajo, se presenta una breve reseña de las principales aplicaciones que se le han dado a la proteómica en el área de los alimentos.

**Palabras clave:** *proteómica, alimentos, alérgenos en alimentos, autenticidad de alimentos, detección de patógenos.*

### ABSTRACT

Proteomics allows to have a dynamic picture of the proteins that are being expressed at a given time and under certain environmental conditions. Its main applications are given within the field of biology and medicine. Development of new technologies and their application to the study of complex matrices has allowed its incorporation to the study of food for finding new bioactive compounds, evaluation of food safety and identification of quality and authenticity biomarkers, among others. In this paper, we present a brief overview of the main applications that have been given to proteomics in the area of food.

**Key words:** proteomics, food allergens, food authenticity, detection of pathogens

### INTRODUCCIÓN

Las proteínas son fundamentales en todos los aspectos de la estructura y la función celular. Existen muchas clases diferentes de proteínas, cada una de ellas especializadas en una función biológica diferente:

reacciones catalíticas, transporte de moléculas, traducción de señales, entre otras (Lehninger). Adicionalmente, son las biomoléculas más diversas, en cuanto a propiedades bioquímicas, composición y estructura.

# Artículos

El término proteoma fue introducido en 1994 por Wilkins y fue definido como el estudio del conjunto completo de proteínas codificadas por un genoma en una célula, un tejido u organismo; en un punto particular en el tiempo (Martins *et al.*, 2007). A diferencia del genoma, el proteoma es altamente dinámico y sus componentes varían en un organismo, tejido, célula o compartimiento subcelular como consecuencia de los cambios en su entorno: situaciones de estrés, administración de drogas, señales bioquímicas, estado fisiológico o patológico, estado metabólico y muchas otras interacciones (Pischetsrieder & Baeuerlein, 2009; Kvasnicka, 2003; Carbonaro, 2004). Los estudios proteómicos, en conjunto con otras metodologías permiten no sólo la identificación y cuantificación de proteínas, sino también hacen posible conocer su localización, modificaciones, interacciones, actividades y función.

El crecimiento exponencial de estos estudios se debe principalmente a la revelación de más y nuevas proteínas; al desarrollo de nuevas tecnologías que se basan principalmente en la combinación de técnicas ya conocidas y a la posibilidad de interpretar y analizar grandes cantidades de datos gracias a los diferentes software que se han desarrollado (<http://www2.cbm.uam.es/jvazquez/PDFs/Proteomica.pdf>).

Inicialmente estos estudios se basaban en la separación de las proteínas por

electroforesis en dos dimensiones (Fields), sin embargo, existen algunas limitaciones para resolver proteínas que son o muy ácidas o básicas y de bajo peso molecular (Issaq & Veenstra, 2008).

Para contrarrestar estas limitaciones y tomando en cuenta que no existe hasta el momento una sola técnica capaz de identificar y cuantificar todos los componentes de una mezcla compleja de proteínas, es común la combinación de la electroforesis en dos dimensiones junto con la espectrometría de masas. Para ello, las proteínas son separadas de acuerdo a su peso molecular y punto isoeléctrico, lo que permite obtener una distribución uniforme en la matriz bidimensional. El gel resultante puede ser considerado como la “huella digital” de la muestra y los spots de interés son escindidos para su digestión y análisis por espectrometría de masas. Sin embargo, la identificación de cada uno de los spots es laboriosa y se limita a las proteínas de mayor abundancia.

Una estrategia alternativa, es la purificación de las proteínas por métodos cromatográficos lo que permite el enriquecimiento de la muestra y el análisis de mezclas complejas de péptidos, tales como los producidos por la digestión directa de un proteoma sin necesidad de separar sus componentes mediante electroforesis (“shotgun”) (Aebersold & Mann, 2003).

Existen diferentes ramas de la proteómica que tratan de caracterizar el proteoma estudiando distintos aspectos del mismo:

- Proteómica descriptiva o estructural para todas las proteínas expresadas en un momento y en un contexto.
- Proteómica comparativa para identificar diferencias a nivel de expresión de proteínas que se asocian a cambios en las condiciones de un organismo.
- Proteómica funcional para la identificación de conjuntos funcionales de proteínas. Es decir, grupos de proteínas que se localizan en un mismo sitio y que operan en mutua interacción (interacciones proteína-proteína).
- Identificación de las proteínas que forman un organelo, lo que ha permitido la elaboración de mapas moleculares de la célula (Castellanos *et al.*, 2004).

Las principales aplicaciones se han desarrollado en el ámbito de la proteómica médica, pero existen aún numerosas limitaciones cuando se trata de estudiar muestras diferentes, como las ambientales, donde muchos microorganismos no han podido ser cultivados en condiciones de laboratorio y por lo tanto no se tiene prácticamente ninguna información sobre ellos. El estudio de los proteomas derivados de todo un conjunto de organismos de un mismo ecosistema, se denomina metaproteómica, y aunque es un área de reciente desarrollo, ya ha permitido obtener una visión general de diferentes sistemas tales como suelo, ambientes marinos, y del metaproteoma humano del tracto gastrointestinal (Wilmes & Bond, 2006).

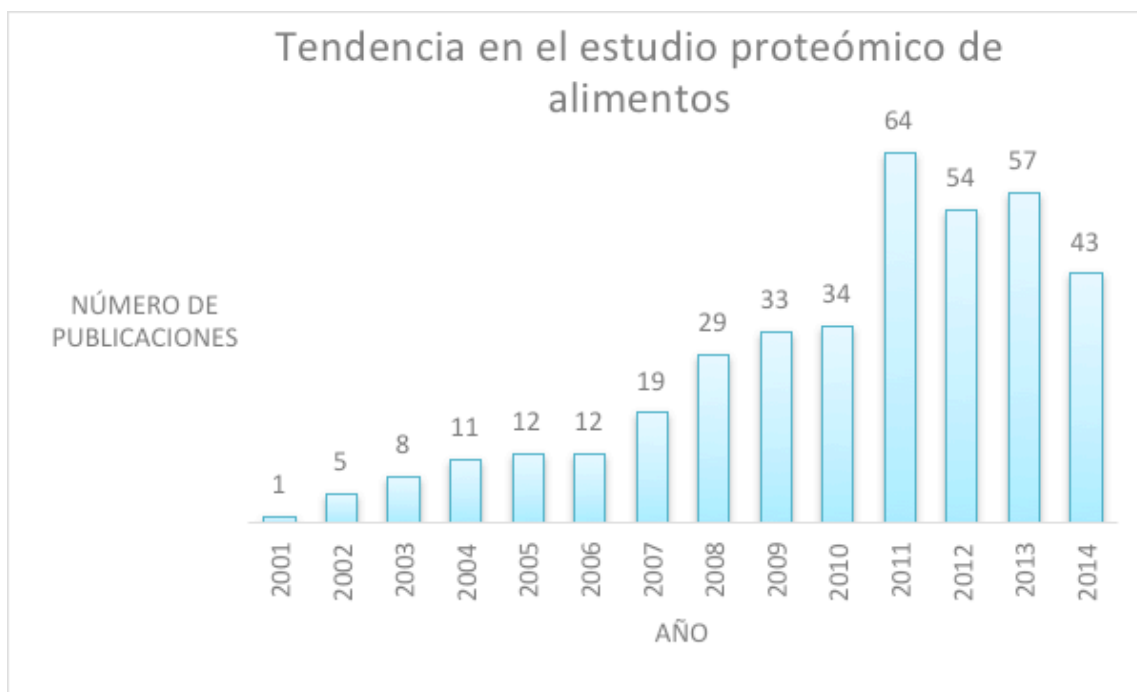
## LA PROTEOMICA EN EL ESTUDIO DE ALIMENTOS

Los alimentos son matrices complejas que tradicionalmente han sido estudiadas desde una perspectiva química, fisicoquímica, microbiológica y sensorial. Sin embargo, la aplicación de herramientas proteómicas en su estudio podría contribuir en la:

- Búsqueda de nuevos compuestos bioactivos funcionales
- Evaluación de la seguridad de los ingredientes alimentarios
- Detección y control del deterioro de alimentos o microorganismos patógenos
- Identificación de biomarcadores
- Identificación de proteínas causantes de alergias
- Calidad y autenticidad de alimentos
- Producción de ingredientes alimentarios
- Procesamiento de alimentos (Kvasnicka)

Al igual que la mayoría de las herramientas novedosas, su inserción en el estudio de alimentos ha sido lenta. La figura 1 muestra los resultados obtenidos a partir de una búsqueda en PubMed con los términos “proteómica” y “alimentos”. Se observa un incremento a partir del año 2011. Sin embargo, en comparación con otras áreas como la biomedicina, (identificación de biomarcadores de diferentes enfermedades o en diferentes tipos de cáncer) su aplicación sigue siendo baja.

*El primer paso en todo estudio proteómico.*  
Para poder llevar a cabo el estudio de



**Fig. 1.** Tendencia del estudio proteómico en alimentos. <http://gopubmed.org/web/gopubmed/>

las proteínas es necesario disponer de técnicas que permitan separarlas, identificarlas y cuantificarlas. Las técnicas de separación pueden ser divididas en dos campos: 1) técnicas electroforéticas y 2) técnicas cromatográficas.

Dentro de las primeras, la electroforesis en gel de poliacrilamida en dos dimensiones (2-DE) es el método estándar utilizado para la separación de las proteínas. Este tipo de geles, permite obtener un arreglo o despliegue físico de las proteínas, separándolas por punto isoeléctrico y peso molecular (Bodzon-Kulakowska *et al.*, 2006).

A pesar de que presenta algunas limitaciones con respecto a la reproducibilidad, resolución, y dificultad para la separación eficiente de las proteínas de baja abundancia, esta técnica sigue siendo

uno de los métodos más utilizados para estudiar muestras complejas.

Diferentes protocolos se han desarrollado para contrarrestar estas limitaciones. Sin embargo, la extracción de las proteínas sigue siendo un paso restrictivo en el estudio proteómico, puesto que es necesario lograr la solubilización de todas las proteínas presentes en el sistema (Martins *et al.*, 2007).

Para la selección del método de extracción, es necesario tomar en cuenta las características físicas y químicas de la muestra, para su posterior adaptación y optimización, dependiendo del tipo de muestras y proteínas de interés. La precipitación de proteínas es generalmente considerada como un paso esencial para su concentración y purificación, ya que permiten

eliminar componentes (azúcares solubles, lípidos, ácidos orgánicos entre otros) que interfieren con el análisis proteómico.

Amoako-Andoh *et al.* (2014), evaluaron tres protocolos de extracción ampliamente usados en proteómica (extracción con Tritón X-100, extracción con SDS y extracción con fenol), en combinación con diferentes métodos de precipitación en una muestra de plátano. El grado de recuperación de proteínas depende del método de precipitación y re-solubilización. Los mayores rendimientos se obtuvieron con fenol como agente precipitante en combinación con buffer R2D2 (5 M urea, 2 M tiourea, 2% CHAPS, 2% C7BzO (3-(4-heptil) fenil-3-hidroxiopropil dimetil propanosulfonato de amonio), 20 mM DTT, 5 mM TCEP-HCl y 0.25% anfolitos), para la solubilización de las proteínas.

La complejidad del estudio se incrementa, cuando el alimento no proviene de un solo organismo, sino de mezclas complejas de estos como en los alimentos fermentados. El pozol por ejemplo, un alimento fermentado elaborado a partir de masa de maíz nixtamalizado, contiene cantidades importantes de almidón (75%) y proteínas de reserva del maíz (50% del total de proteínas) que interfieren en la detección de las proteínas de los microorganismos que fermentan la masa. A pesar de la complejidad del sistema se desarrolló y optimizó un protocolo para la recuperación de las proteínas y su posterior análisis.

Se observó que a los 15 días de fermentación, las proteínas mayormente representadas pertenecen al grupo de las

bacterias ácido lácticas, principalmente del género *Lactobacillus*, mientras que los hongos están representados por *Aspergillus*. En ambos casos, las proteínas predominantes son las relacionadas al metabolismo de carbohidratos y producción de energía (Cárdenas *et al.*, 2014).

En el vino, la concentración de proteínas es baja pero estas tienen un papel crucial en sus características. La mayor limitante que existía para el estudio de la proteómica del vino era la falta de métodos adecuados para la extracción y posterior separación de las proteínas por 2-DE. Mainente *et al.* (2014), optimizó la extracción de proteínas en una muestra de vino tinto (cv. Carbernet) para su posterior separación y análisis por masas. La concentración de proteína extraída fue de  $115 \pm 25.1$  mg de proteína/L y se lograron identificar tanto proteínas del vino como de *Botrytis cinerea* lo que podría indicar posible infección de las uvas.

## DETECCIÓN DE MICROORGANISMOS PATÓGENOS

Una aplicación directa de la proteómica de alimentos es la detección de microorganismos patógenos. Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) se producen por la ingestión de alimentos y/o bebidas contaminadas con estos microorganismos. Constituyen un importante problema de salud pública debido a su alta incidencia, a la resistencia que presentan y a la existencia de muchos grupos vulnerables. Su presencia, es un indicador directo de la calidad higiénico-

# Artículos

sanitaria de los alimentos debido a la contaminación de la materia prima, o a alguna deficiencia higiénica durante el procesamiento.

El control de los microorganismos causantes de ETA, depende en cierta medida del método analítico que se utiliza para su detección. De manera usual, su identificación se hace con base en criterios morfológicos y fisiológicos mediante el cultivo de muestras de alimentos posiblemente contaminados, en diversos medios de cultivo y bajo condiciones establecidas. Sin embargo, la obtención de resultados puede tomar días o semanas y las bacterias pueden entrar en un estado viable pero no cultivable (González & Herrera 2005).

Esto ha generado la necesidad de desarrollar procedimientos más sensibles que permitan la tipificación e identificación de microorganismos patógenos. La amplificación

de secuencias blanco de ADN mediante PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa), ha permitido el procesamiento de grandes cantidades de muestras en tiempos cortos y con ello, la identificación de microorganismos no cultivables. No obstante, debido a que los alimentos son matrices complejas, la eficiencia del método puede reducirse significativamente por la presencia de polisacáridos, proteínas, sustancias inhibitorias y lípidos dando lugar a resultados falsos o poco confiables.

La detección de proteínas implicadas en la resistencia y adaptación de los microorganismos a ciertas condiciones de estrés, así como en los mecanismos de patogenicidad y producción de toxinas, entre otras, es una alternativa que podría permitir solventar estas limitantes (Tabla 1).

**Tabla 1.** Estudios proteómicos realizados en microorganismos patógenos de los alimentos

<b>Muestra</b>	<b>Propósito del estudio</b>	<b>Método utilizado</b>	<b>Referencia</b>
<i>Fusarium graminearum</i>	Estudio de las proteínas secretadas implicadas en la patogenicidad en cebada y trigo	2-DE y MS/MS	Yang et al., 2012
<i>Listeria monocytogenes</i>	Comparación de la respuestas de diferentes cepas de <i>L. monocytogenes</i> a condiciones alcalinas	Shotgun	Nilsson et al., 2012
<i>Penicillium expansum</i>	Papel crucial de proteínas antioxidantes y enzimas hidrolíticas en la patogenicidad	2-DE y MS/MS	Qin et al., 2007

## EVALUACIÓN DE PROTEÍNAS ALERGÉNICAS

La alergia a los alimentos es una respuesta de hipersensibilidad del sistema inmune que afecta hasta un 4% de niños y adultos en países desarrollados. La mayoría de estas reacciones alérgicas en alimentos se debe a las proteínas y van desde reacciones leves, que pueden ser de naturaleza transitoria (ceden con el tiempo), hasta graves, que pueden provocar la muerte (Sancho & Mills, 2010).

Los alimentos que causan las reacciones más graves y que se ven implicados con mayor frecuencia son los cereales (debido al alto contenido de gluten), huevos, pescados, leche, soya, nueces y otros frutos secos. Al menos 70 alimentos se han correlacionado como causantes de alergias alimentarias ([http://www.who.int/foodsafety/fs\\_management/No\\_03\\_allergy\\_June06\\_sp.pdf](http://www.who.int/foodsafety/fs_management/No_03_allergy_June06_sp.pdf)).

Los métodos para la detección de alérgenos en alimentos, son principalmente la detección de proteínas por medio de anticuerpos (ELISA). Sin embargo, la cuantificación por métodos inmunológicos se ve afectada por la presencia de distintos alérgenos provenientes de otros alimentos, la complejidad de la muestra y la variabilidad de la especificidad de los anticuerpos. Un método alternativo para su detección y cuantificación ha sido la proteómica (Monaci & Visconti, 2009).

La extracción en fase sólida, acoplada a la cromatografía líquida para la posterior identificación de las proteínas por

espectrometría de masas, ha permitido la detección de trazas de tres proteínas alergénicas de leche de vaca (lactoalbúmina, lactoglobulinas A y B), en muestras de 9 mezclas de jugo de frutas y 5 jugos de naranja adquiridos en un mercado local de Bélgica. De ellos, ninguno declaraba la presencia de leche en su etiqueta (Monaci & van Hengel, 2008).

La complejidad de las muestras normalmente afecta la sensibilidad y la selección de los métodos espectrométricos, por lo que es deseable el enriquecimiento de las muestras cuando se quiere analizar péptidos para su utilización como marcadores. Careri *et al.* (2008) desarrollaron un procedimiento de extracción inmunomagnética, seguido por digestión con tripsina, lo que permitió la identificación, detección y cuantificación de trazas del alérgeno Ara h3/4 en el cacahuate y en diferentes cereales comerciales.

Previo al desarrollo de métodos basados en espectrometría de masas para la detección de alérgenos, es necesario establecer las secuencias de las proteínas que servirán como etiquetas para su identificación. Además, se debe considerar que los alimentos sufren diversas modificaciones durante su procesamiento. Por ejemplo, los cacahuates generalmente son tostados bajo una gran variedad de condiciones, afectando la estabilidad y estructura de las proteínas. Al analizar tres muestras de cacahuate sin tostar, con tostado medio (12 min a 140°C) y tostado

fuerte (20 min a 140°C), por cromatografía en capa líquida, combinada con espectrometría de masas en tándem (Q-TOF), se establecieron los posibles péptidos para las proteínas Ara h 1, Ara h 2 y Ara h 3. Dichos péptidos, pueden servir como marcadores específicos para su detección sin importar el procesamiento (Chassaing *et al.*, 2007).

## **CALIDAD Y AUTENTICIDAD DE ALIMENTOS**

Los consumidores exigen información clara y fiable sobre los alimentos que consumen, esta información es de utilidad al momento de elegir el producto que se va a comprar. Por ejemplo, un producto puede ser elegido basándose en la salud del consumidor, en su religión, sus preferencias y sus alergias entre otros. Por ello, es de suma importancia que el etiquetado de los productos sea el correcto y con una descripción fiel de su contenido (Sentandreu *et al.*, 2009).

Un objetivo importante en la industria de los alimentos, es la autenticación de los mismos, por lo que se busca que los métodos para su análisis sean robustos, precisos y sensibles. El análisis proteómico puede ser aplicado en la autenticación de alimentos, mediante la detección de marcadores, los cuales deben ser característicos de los sustituyentes.

Existen ejemplos de adulteraciones en alimentos, como es el reemplazo de manteca de cacao por otras grasas en chocolatería, la sustitución de café de alta calidad por uno de menor calidad, en los productos cárnicos, la

sustitución de carne de alta calidad por carne de menor valor, lo que resulta en un mayor beneficio para los productores.

Los métodos proteómicos han permitido la detección de carne de pollo en mezclas con carne de puerco mediante un procedimiento sencillo (Fig. 1).

Usando esta aproximación, se detectaron 0.5% de proteínas contaminantes (provenientes de carne de pollo), utilizando como proteína blanco la cadena ligera de la miosina 3. Además de su simplicidad, este enfoque tiene la ventaja de que puede ser aplicado de forma eficaz, tanto en carne cruda, como para la cocida (Sentandreu *et al.*, 2009).

La calidad de la carne está determinada por sus propiedades físico-químicas (pH, capacidad de retención de agua, color, textura, entre otros), organolépticas (suavidad, consistencia, olor, sabor), y las microbiológicas. A su vez, estas se ven influenciadas por otros factores como los sistemas de producción, alimentación y manejo pre-mortem de los animales y post-mortem de la carne (Hernández *et al.*, 2007). Después del período post-mortem, la carne sufre algunos cambios importantes debido a la falta de oxígeno y a la acumulación de lactato. Hay rigidez, debido a la formación irreversible del complejo actina-miosina y descenso de pH. A pesar de que estos mecanismos están bien establecidos, continua la pregunta de cómo la degradación de algunas proteínas durante el almacenamiento de la carne afecta la ternura.

# Artículos



**Fig. 2.** Aproximación proteómica desarrollada para la detección de la autenticidad de un producto cárnico.

El estudio de los perfiles proteicos en músculo de cerdo, durante las primeras 48 horas de almacenamiento post-mortem, permitió el reconocimiento de aproximadamente 1000 proteínas individuales. El patrón general de proteínas a los tiempos 0, 4, 8, 24 y 48 horas parece ser notablemente consistente durante el envejecimiento *post mortem*, esto sugiere que las propiedades de solubilidad de la mayoría de las proteínas del músculo no se ve alterada durante el almacenamiento.

Sin embargo, la comparación de estos perfiles mostró cambios muy notables en al menos 15 proteínas, debido principalmente a su hidrólisis durante el almacenamiento. Su análisis posterior, permitió confirmar la degradación de algunas proteínas estructurales como la titina, nebulina, desmina, filamina y viculina y por primera vez, se demostró que la actina también es degradada (Lametsch & Bendixen, 2001; Lametsch *et al*, 2002).

Algunos estudios proteómicos realizados en alimentos se enlistan en la Tabla 2.

## BÚSQUEDA DE PÉPTIDOS BIOACTIVOS

Nutricionalmente, la calidad de las proteínas no solo depende de la composición de aminoácidos, de su digestión, absorción y subsecuente anabolismo, sino también de los péptidos que se liberan. Muchas funciones en el organismo son mediadas por péptidos, ya que actúan como neurotransmisores, hormonas o antibióticos.

Debido a que los péptidos presentes en los alimentos pueden tener estructuras similares a los péptidos endógenos del organismo hospedero, es razonable pensar que son capaces de interactuar con sus receptores y desempeñar un papel en la regulación de la respuesta inmune como factores de crecimiento o actuar como antimicrobianos. Estos pueden derivar de proteínas de leche, pescado, huevo, carne, cereales, leguminosas, entre otros (Saavedra *et al*, 2013; Sánchez-Rivera *et al.*, 2014).

Los péptidos pueden ser generados durante la manufactura del alimento a través de diferentes procesos como la fermentación o maduración, pero la mayoría surgen debido a la hidrólisis de las proteínas de la dieta durante su digestión (Barbé *et al*, 2014).

El creciente interés en el estudio de los péptidos, ha dado como resultado la creación de un subcampo dentro de la proteómica de alimentos, la peptidómica (Saavedra *et al*, 2013; Sánchez-Rivera *et al*, 2014). Barbé *et al.* (2014) estudiaron la liberación de péptidos en el tracto gastrointestinal de cerdos

alimentados con seis matrices de lácteos. De este modo, lograron la secuenciación e identificación de más de 16 000 péptidos, de los cuales 86% y 14% resultaron de la hidrólisis de caseína y  $\beta$ -lactoglobulina, respectivamente. Del total de péptidos liberados de caseína,  $\alpha$ s1-,  $\alpha$ s2-,  $\beta$ - y  $\kappa$ -caseína representaron el 28%, 15%, 48% y 8%. Entre todos estos, 29 son conocidos por tener actividades biológicas como emulsificantes, antihipertensivos, antioxidantes, antimicrobianos, e inhibidores de proteasas, entre otras.

## LOS ALIMENTOS FERMENTADOS

La fermentación de los alimentos es una práctica muy antigua presente en todas las culturas del mundo, ya que es uno de los métodos de preservación de alimentos más antiguo y económico que se conoce. Su procesamiento involucra el crecimiento y actividad de microorganismos (bacterias y hongos).

Uno de los alimentos fermentados más antiguos es el vino de miel, la primera bebida alcohólica de la que se tiene conocimiento, la cual es elaborada a partir de la fermentación de los azúcares de miel de abeja. La fermentación es una forma natural de aumentar el valor nutricional a través de la síntesis de aminoácidos esenciales y vitaminas. Permite mejorar las características organolépticas, aumentar la digestibilidad del sustrato, eliminar sabores y texturas desagradables (Kabak *et al*, 2011).

# Artículos

**Tabla 2.** Ejemplos de aplicaciones de la proteómica en alimentos (Carbonaro, 2004).

Método utilizado	Propósito del estudio
<b>Proteómica en carne</b>	
2-DE junto con espectrometría de masas	Identificación y caracterización de proteínas y enzimas como marcadores, así como los niveles específicos de estas que se expresan en ciertos animales
2-DE	Mapa proteómico de ratón que se ha empleado como referencia para la comparación de diferentes tipos de carne
2-DE junto con espectrometría de masas	Estudio de los cambios en la calidad de la carne asociados con el envejecimiento post-mortem y las interacciones inducidas en las proteínas del músculo con lípidos, carbohidratos y otros componentes de la carne
2-DE	Identificación de cambios moleculares que ocurren en el tejido muscular y en la carne de puerco durante el almacenamiento de la carne
<b>Proteómica en cereales</b>	
2-DE junto con espectrometría de masas	Estudio de los múltiples mecanismos de regulación en respuesta a selenio en arroz
2-DE junto con espectrometría de masas	Estudio de la germinación de las semillas de arroz centrándose en los en el perfil de cambios de la expresión de proteínas
2-DE junto con espectrometría de masas	Mapa proteómico del endospermo del maíz
<b>Proteómica en bebidas fermentadas</b>	
2-DE junto con espectrometría de masas	Estudio de los cambios bioquímicos inducidos durante la fermentación del mosto por la cepa <i>Saccharomyces cerevisiae</i> Z622
1-D junto con espectrometría de	Detección de aditivos en vinos blancos

# Artículos

masas	
2-DE junto con espectrometría de masas	Detección de proteínas que se expresan diferencialmente en uvas vinícolas en respuesta a la infección por <i>Xylella fastidiosa</i>
Shotgun	Análisis de proteínas de bajo peso molecular en vinos y su posible potencial inmunogénico
Espectrometría de masas y ELISA	Detección de péptidos antigénicos en dos cervezas italianas

Los principales tipos de fermentación son: la alcohólica, ácido láctico, ácido acético y alcalina. En la primera, las levaduras son los microorganismos predominantes y el producto final de la fermentación es el etanol. La fermentación ácido láctico (leches fermentadas, cereales) es llevada a cabo por bacterias ácido lácticas, cuya fermentación puede ser heterofermentativa u homofermentativa, los productos finales de la fermentación son, en el caso de la heterofermentativas, una mezcla de ácido láctico, CO<sub>2</sub> y acetato o etanol; y en el caso de la homofermentativas, lactato. Un segundo grupo de bacterias importantes en la fermentación de alimentos son las bacterias productoras de ácido acético a partir de alcohol. Por otro lado las especies de *Bacillus* (*Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis* y *Bacillus pumilius*) hidrolizan proteínas a aminoácidos y péptidos con liberación de amonio, lo que aumenta la alcalinidad del alimento en el que se encuentran (fermentación alcalina) (Battcock & Azam-Ali, 1998; Blandinob *et al*, 2003). Estos organismos son los responsables de

las propiedades finales como la textura y sabor.

Dentro de las bebidas fermentadas, la cerveza es una de las más antiguas y consumidas en todo el mundo. Su elaboración puede ser dividida a grandes rasgos en dos procesos principales: el primero consiste en la conversión del almidón de la cebada en azúcares fermentables por acción enzimática durante el malteo y la posterior fermentación alcohólica por la acción de las levaduras. Durante el malteo hay cambios en contenido de agua, varias enzimas se activan (proteasas, amilasas y  $\beta$ -glucanasas) y algunas proteínas se modifican y degradan, debido a las proteasas del sistema, lo que contribuye a la generación de fuente de nitrógeno para el crecimiento de las levaduras. Las levaduras también excretan algunas proteínas al medio durante la fermentación.

Los estudios proteómicos que se han realizado en la cerveza, han permitido la identificación de proteínas responsables de la calidad de la espuma, como son: BDAI-1, el

inhibidor de tripsina de cebada-CME y la tiorredoxina de levadura (Limure & Sato, 2013).

En los quesos fermentados, las actividades enzimáticas dependen de la lisis celular de los microorganismos iniciadores, principalmente enzimas proteolíticas que confieren las características organolépticas y textura del queso. La identificación de los péptidos liberados en el queso ha permitido determinar la especificidad de las peptidasas de los cultivos iniciadores y se ha observado que estas siguen activas una vez liberadas. Sin embargo, no hay información respecto a la acción secuencial de las enzimas proteolíticas *in situ*.

El análisis electroforético unidimensional del queso Emmental, en las diferentes etapas del proceso de maduración, ha permitido la identificación de proteínas del suero de leche (albúmina sérica bovina,  $\beta$ -lactoglobulina y lactoferrina, entre otras).

Por otra parte, al evaluar por espectrometría de masas el tipo de proteínas que se expresan en las diferentes condiciones de manufactura del queso, se identificaron 62 proteínas, las cuales se agruparon en cinco grupos funcionales: i) proteólisis, ii) glicólisis, iii) respuesta a estrés, iv) reparación de DNA y RNA y v) oxidoreducción.

La expresión de proteínas relacionadas con la respuesta a estrés y reparación de ácidos nucleicos, son un indicativo que los microorganismos que se desarrollan durante la manufactura del queso están sujetos a

diferentes condiciones de estrés como son: calentamiento de la leche (55°C), el ácido producido, la adición de sal y las diferentes temperaturas de incubación que se utilizan durante la maduración (12-24°C). Las proteínas mayormente representadas en esta etapa, son derivadas de *Propionibacterium freudenreichii*, responsable de la mayor producción de ácido propiónico (Gagnaire *et al.*, 2004).

## CONCLUSIONES

La proteómica aplicada en ciencia y tecnología de alimentos, proviene de la necesidad de contar con métodos confiables que permitan monitorear los cambios que suceden en los alimentos durante su procesamiento. Actualmente, se espera que un alimento tenga cualidades sensoriales adecuadas, que garantice seguridad y nutrición; además, hay una demanda para el uso de menos aditivos y de productos orgánicos en los mismos.

La proteómica, ha sido utilizada con éxito en la detección de alérgenos, de organismos genéticamente modificados, en el análisis de la integridad de las materias primas o de la contaminación por microorganismos de los alimentos procesados, por lo que su impacto en el análisis de alimentos es creciente. Sin embargo, queda aún mucho por hacer, por lo que los resultados que se obtienen deben ser evaluados cuidadosamente. Se deben considerar tanto las posibles dificultades metodológicas en la extracción de proteína, como la naturaleza de la muestra y el

y el contenido aún limitado de las bases de datos.

La complementación de la proteómica con otras metodologías como la metabolómica y la liberación a las bases de datos de más genomas, deberá dar como resultado información más robusta que tendrá un impacto benéfico en el estado nutricional y en la salud de los consumidores.

## AGRADECIMIENTOS

La Q.A Jocelin Rizo agradece a Conacyt por la beca de maestría 480538. Este trabajo es parte de la tesis de maestría en el Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM. Con el apoyo de Conacyt 49687-Z y DGAPA-UNAM IN218714.

## REFERENCIAS

- Aebersold R & Mann M (2003) Mass spectrometry-based proteomics. *Nature* 422: 198-207.
- Amoako-Andoh F, Daniels B, Keulemans W & Davey M (2014) A systematic evaluation of protocols for a proteomics analysis of (lyophilized) fruit tissues. *Electrophoresis* 35: 1395-1405.
- Barbé F, Le Feunteun S, Rémond D, Ménard O, Jardin J, Henry G, Laroche B & Dupont D (2014) Tracking the in vivo release of bioactive peptides in the gut during digestion: Mass spectrometry peptidomic characterization of effluents collected in the gut of dairy matrix fed mini-pigs. *Food Res. Int.* 63: 147-156.
- Battcock M & Azam-Ali S (1998) Fermented fruits and vegetables. A global perspective. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations .
- Blandinob A, Al-Aseeria ME, Pandiella SS, Canterob D & Webb C (2003) Cereal-based fermented foods and beverages. *Food Res. Int.* 36: 527-543.
- Carbonaro M (2004) Proteomics: present and future in food quality evaluation. *Trends Food. Sci. Tech.* 15: 209-216.
- Cárdenas C, Barkla BJ, Wacher C, Delgado-Olivares L & Rodríguez-Sanoja R (2014) Protein extraction method for the proteomic study of a Mexican traditional fermented starchy food. *J. Proteomics* 111: 139-147.
- Careri M, Elviri L, Lagos JB, Mangia A, Speroni F & Terenghi M (2008) Selective and rapid immunomagnetic bead-based sample treatment for the liquid chromatography–electrospray ion-trap mass spectrometry detection of Ara h3/4 peanut protein in foods. *J. Chromatogr. A* 1206: 89-94.

# Artículos

- Castellanos LG, González JL & Padrón G (2004) Proteómica. In: Combinatoria molecular. Elfos Scientiae. La Habana. pp. 367-403.
- Chassaing H, Norgaard JV & Hengel AJ (2007) Proteomics-Based approach to detect and identify major allergens in processed peanuts by capillary LC-Q-TOF (MS/MS). *J. Agric. Food Chem.* 55:4461-4473.
- Fields S (2001) Proteomics in Genomeland. *Science* 291(5507): 1221-1224.
- Gagnaire V, Piot M, Camier B, Vissers JP, Jana, G & Leónila J (2004) Survey of bacterial proteins released in cheese: a proteomic approach. *Int. J. Food Microbiol* 94: 185-201.
- González FT (2005) Enfermedades transmitidas por alimentos y PCR: prevención y diagnóstico. *Salud Pública de México* 47: 388-390.
- Hernández BJ (2007) Efecto del manejo pre-mortem en la calidad de la carne. *Nacameh* 7(2): 41-64.
- limure T & Sato K (2013) Beer proteomics analysis for beer quality control and malting barley breeding. *Food Res. Int.* 54: 1013-1020.
- Issaq H & Veenstra T (2008). Two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis (2D-PAGE): advances and perspectives. *Biotechniques.* 44(5): 697-700.
- Kabak B & W. Dobson AD (2011) An Introduction to the Traditional Fermented Foods and beverages of Turkey. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 51: 248-260.
- Kvasnicka F (2003) Proteomics: general strategies and application to nutritionally. *J. Chromatogr. B* 787(1): 77-89.
- Lametsch R & Bendixen E (2001) Proteome Analysis Applied to Meat Science: Characterizing Post-Mortem Changes in Porcine Muscle. *J. Agric. Food Chem.* 49: 4531-4537.
- Lametsch R, Roepstorff P & Bendixen E (2002) Identification of protein degradation during post-mortem storage of pig meat. *J. Agric. Food Chem.* 50: 5508-5512.
- Lehninger LA (1983) Bioquímica. Las bases moleculares y estructurales y función celular. Ediciones Omega, S. A.
- Mainente F, Zoccatelli G, Lorenzini M, Cecconi D, Vincenzi S, Rizzi C & Simonato B (2014) Red wine proteins: two dimensional (2-D) electrophoresis and mass spectrometry analysis. *Food Chem.* 164: 413-417.
- Martins-de-Souza D, Menezes O, dos Santos FA, Horiuchu RS, Domingues C, de Paula E, Marangoni S, Gattaz WF, Dias-Neto E & Camillo J (2007) The use of ASB-1 combination with CHAPS is the best for solubilization of human brain proteins for two-dimensional gel electrophoresis. *Brief.*

# Artículos

- Funct. Genom. Proteom.* 6: 70-75.
- Monaci L, & van Hengel AJ (2008) Development of a method for the quantification of whey allergen traces in mixed-fruit juices based on liquid chromatography with mass spectrometric detection. *J. Chromatogr. A* 1192(1): 113-120.
- Monaci L, & Visconti A (2009) Mass spectrometry-based proteomic methods for analysis of food allergens. *Trends Anal. Chem.* 28:581-591.
- Nilsson RE, Latham R, Mellefont L, Ross T & Bowman JP (2012) MudPIT analysis of alkaline tolerance by *Listeria monocytogenes* strains recovered as persistent food factory contaminants. *Food Microbiol.* 30: 187-196.
- Pischetsrieder M & Baeuerlein R (2009) Proteome research in food science. *J. R. Soc. Chem.* 38: 2600-2608.
- Qin G, Tian S, Chan Z & Li B (2007) Crucial Role of antioxidant proteins and hydrolytic enzymes in pathogenicity of *Penicillium expansum*. *Mol. Cell. Proteom.* 6: 425-438.
- Saavedra L, Hebert EM, Minahk C & Ferranti P (2013) An overview of “omic” analytical methods applied in bioactive peptide studies. *Food Res. Int.* 54: 925- 934.
- Salud OM (2006) Red Internacional de Autoridades en materia de Inocuidad de los Alimentos (INFOSAN). Disponible en: [http://www.who.int/foodsafety/fs\\_management/No\\_03\\_allergy\\_June06\\_sp.pdf](http://www.who.int/foodsafety/fs_management/No_03_allergy_June06_sp.pdf)
- Sánchez-Rivera L, Martínez-Maqueda D, Cruz-Huerta E, Miralles B & Recio I (2014) Peptidomics for discovery, bioavailability and monitoring of dairy bioactive peptides. *Food Res. Int.* 63: 170-181.
- Sancho A & Mills EN (2010) Proteomic approaches for qualitative and quantitative characterisation of food allergens. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 58: 42-46.
- Sentandreu M, Fraser PD, Halket J, Patel R & Bramley PM (2009) A proteomic-based approach for detection of chicken in meat mixes. *J. Proteome Res.* 9: 3374-3383.
- Vázquez C J (2014) Presente y Futuro de la Proteómica. Disponible en: <http://www2.cbm.uam.es/jvazquez/PDFs/Proteomica.pdf>
- Wilmes P & Bond PL (2006) Metaproteomics: studying functional gene expression in microbial ecosystems. *Trends Microbiol.* 14(2): 92-97.
- Yang F, Jensen JD, Svensson B, Jorgensen HJ, Collinge DB & Finnie C (2012) Secretomics identifies *Fusarium graminearum* proteins involved in the interaction with barley and wheat. *Mol. Plant Pathol.* 13: 445-453.



[www.smbb.com.mx](http://www.smbb.com.mx)