



CELULOSA Y CELULASAS

En la actualidad, es ampliamente conocido que el papel es uno de los productos de mayor uso en la vida del hombre. Se fabrica a partir de una materia prima renovable: las fibras de **celulosa** extraídas principalmente de los árboles, pero también de otras especies vegetales, como paja, bagazo de la caña de azúcar, bambú, algodón, lino, entre otros (ver cuaderno N° 97).

Sin embargo, es menos conocido que la celulosa se encuentra comercialmente disponible en una gran variedad de presentaciones y se utiliza en las industrias de los detergentes, textil y alimenticia, entre otras. Esto se debe a la posibilidad de romper la molécula de fibra celulósica (un polímero) en unidades más pequeñas, gracias a la acción de algunas enzimas llamadas **celulasas** (Ver Cuadernos N° 30, 34).

Al estudiar las enzimas celulasas que utilizan naturalmente los hongos y bacterias para degradar la celulosa, se encontró que la hidrólisis (degradación) de este polímero es muy compleja. Por eso, es necesario investigar las estructuras y funciones de estas enzimas para conocer con mayor detalle los mecanismos enzimáticos involucrados en la degradación de la celulosa.

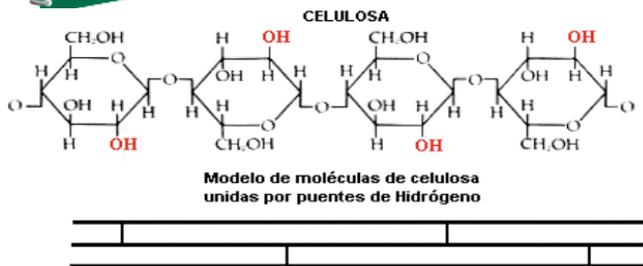
En este sentido, se espera que las herramientas moleculares y biotecnológicas permitan mejorar los procesos ya existentes, o bien encontrar nuevas aplicaciones.

La celulosa: el polisacárido natural más abundante en la naturaleza

La celulosa es el principal componente de la membrana celular de la mayor parte de las plantas. Una célula vegetal joven contiene aproximadamente un 40% de celulosa y la madera un 50 %. El ejemplo más representativo lo constituye el algodón que contiene más de 90% de celulosa.

Teniendo en cuenta su estructura química, se define como un polisacárido lineal formado por residuos de glucosa unidos por enlaces beta 1-4 (β -1,4). La configuración β , le permite a la celulosa formar cadenas largas y lineales, las cuales se presentan unidas entre sí por medio de enlaces de puentes de hidrógeno dando lugar a la formación de microfibrillas. Estas regiones, conocidas como regiones cristalinas, son altamente ordenadas y le dan las características de insolubilidad, rigidez y resistencia al ataque enzimático.

"El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



Fuente: <http://fai.unne.edu.ar/biologia/images/celulosa.gif>

En ciertas regiones del haz de microfibrillas, las cadenas se rompen mediante sus puentes de hidrógeno y se forman regiones denominadas amorfas, las cuales se hidratan permitiendo que ciertas enzimas ataquen y degraden a la celulosa.

A pesar de que está formada por unidades de glucosa, los animales no pueden utilizar a la celulosa como fuente de energía, ya que no cuentan con las enzimas necesarias para romper los enlaces β -1,4-glucosídicos. Sin embargo en el intestino de los rumiantes, herbívoros y termitas, existen microorganismos que poseen una enzima llamada *celulasa* que rompe éste enlace. Al hidrolizarse la molécula de celulosa quedan disponibles las moléculas de glucosa que pueden emplearse como fuente de energía.

La celulosa y la industria

Muchas son las utilidades industriales que se le puede dar a la celulosa. Para la industria de alimentos y farmacéutica, por ejemplo, es sometida a modificaciones que generan una serie de compuestos con múltiples propiedades funcionales: la *carboximetil celulosa* que se utiliza como espesante, la *celulosa microcristalina* es usada como anticompactante y en la industria farmacéutica para elaborar tabletas.

Otra aplicación de la celulosa es la obtención de biocombustibles (ver Cuaderno N° 58). Muchos investigadores están poniendo sus esfuerzos en buscar alternativas para la obtención de etanol como combustible. La celulosa sería una fuente de glucosa que actuaría como sustrato para la fermentación alcohólica.

Enzimas con afinidad a la celulosa

Los microorganismos capaces de degradar celulosa secretan un sistema complejo de enzimas extracelulares, **celulasas y xilanasas**, que actúan en forma conjunta en la degradación de celulosa y hemicelulosa (los dos componentes principales de la madera).

"El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



Las fibras de celulosa son degradadas esencialmente por dos tipos de sistemas enzimáticos llamados agregativos y no agregativos, como se muestra en la siguiente figura:



Fuente: ArgenBio

§ **Sistemas agregativos:**

En algunas bacterias anaerobias que degradan celulosa y hemicelulosa, como *Cellulomonas thermocellum* y *C. cellulovorans*, las enzimas que participan en la degradación se encuentran localizadas en la superficie de estas bacterias formando complejos multienzimáticos de alto peso molecular, conocido como “celulosoma”. Este complejo comprende al menos 14 polipéptidos distintos, incluyendo varias celulasas y xilanasas y al menos una β -glucosidasa, unidos a una proteína sin actividad enzimática, pero que participa en el reconocimiento de las fibras de celulosa a la superficie de la célula. Esta proteína, llamada proteína de unión a celulosa (CbpA: *cellulose binding protein A*), es necesaria para, junto con las enzimas hidrolíticas, romper las estructuras amorfas de celulosa pero no las formas cristalinas del polímero.

• **Sistemas no agregativos:**

Estos sistemas están compuestos principalmente por tres tipos de enzimas:

- (i) Endoglucanasas
- (ii) Exoglucanasas
- (iii) Celobiasas

Estos tres tipos de enzimas actúan en forma sinérgica (juntas, en forma cooperativa) en la degradación de la celulosa.

La *endoglucanasa* descompone los enlaces internos β -1,4 y así altera la estructura cristalina de la celulosa y expone las cadenas polisacáridas de celulosa individual. La *exoglucanasa* parte de a 2 o 4 unidades de glucosa desde los extremos de las cadenas expuestas producidas por la endoglucanasa, produciendo tetrasacáridos o disacáridos como la celobiosa. Finalmente, la

"El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.

celobiasa hidroliza estos productos, obteniendo los monosacáridos individuales de glucosa.

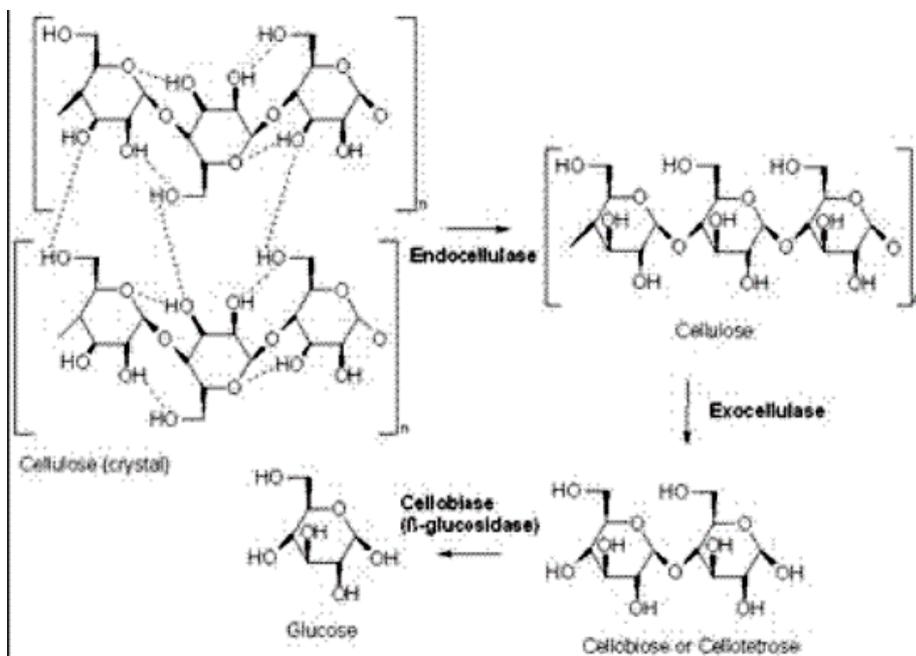


Figura: Degradación enzimática de la celulosa

Fuente: <http://www.enzymeindia.com/enzymes/cellulase-spanish.asp>

Microorganismos que degradan celulosa

Los microorganismos celulolíticos (que degradan celulosa) desempeñan un papel importante en la biosfera reciclando este polímero. Existe una diversidad de estos microorganismos, bacterias y hongos aeróbicos o anaeróbicos, mesófilos o termófilos (ver Cuaderno N° 57), que producen las enzimas celulasas. Algunos de ellos son:

GRUPO	ESPECIES
hongos aeróbicos	<i>Trichoderma viride</i> , <i>Trichoderma reesei</i> , <i>Penicillium pinophilum</i> , <i>Sporotrichum pulverulentum</i> , <i>Fusarium solani</i> , <i>Talaromyces emersonii</i> y <i>Trichoderma koningii</i> .
hongos aeróbicos termófilos	<i>Sporotrichum thermophile</i> , <i>Thermoascus aurantiacus</i> y <i>Humicola insolens</i> .
hongos anaeróbicos mesófilicos	<i>Neocallimastix frontalis</i> , <i>Piromonas communis</i> , <i>Sphaeromonas communis</i> .
bacterias aeróbicas mesófilicas y termófilas	<i>Cellulomonas sp.</i> , <i>Cellvibrio sp.</i> , <i>Microbispora bispora</i> y <i>Thermomonospora sp.</i>
bacterias anaeróbicas	<i>Acetivibrio cellulolyticus</i> , <i>Bacteroides succinogenes</i> ,

"El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



mesofílicas y termófilas	<i>Ruminococcus albus</i> , <i>Ruminococcus flavefaciens</i> y <i>Clostridium thermocellum</i> .
--------------------------	--

Dentro del grupo de hongos aeróbicos, el hongo filamentoso *Trichoderma reesei* es uno de los más estudiados y se caracteriza por su efectividad en la degradación de la celulosa nativa y cristalina mediante su complejo celulolítico que presenta las tres actividades necesarias para la hidrólisis de la celulosa (endoglucanasa, exoglucanasa y β -glucosidasa). Otra ventaja que presenta el uso de este microorganismo, es su estabilidad en reactores agitados bajo condiciones de pH ácido y a 50 °C durante 48 hs.

Entre los microorganismos, los termófilos son de interés por su capacidad para producir enzimas celulolíticas termoestables, las cuales son en general estables bajo condiciones severas, incluso en niveles de pH altamente ácidos o alcalinos así como temperaturas de hasta 90 °C.

Las enzimas celulolíticas producidas por las bacterias del género *Bacillus* presentan básicamente actividad endo- β -1,4-glucanasa y exo- β -1,4-glucanasa; pero tienen una característica particular, en especial las enzimas de *Bacillus subtilis* y es la resistencia a ser inhibida por la propia glucosa o celobiosa que producen.

En la actualidad existen disponibles numerosos preparados enzimáticos comerciales que contienen principalmente actividad celulolítica (endo- β -1,4-glucanasa, exo- β -1,4-glucanasa, β -1,4-glucosidasa). Estos preparados enzimáticos son obtenidos de microorganismos de origen fúngico y bacteriano, que principalmente provienen de los microorganismos *Trichoderma sp.*, *Aspergillus niger* y *Bacillus subtilis*.

Aplicaciones de la Celulasa

En la industria textil, las celulasas juegan un papel muy importante en el desteñido de telas de jean ya que se usan para remover el color azul índigo y dar una apariencia de desteñido. Tradicionalmente este desteñido se realizaba con piedra pómez ("stone wash"). En la actualidad, una pequeña cantidad de enzima puede sustituir varios kilos de piedras. Con la reducción de las piedras se producen menos daño a las telas y menos desgaste de las lavadoras (ver Cuaderno N° 16).

Las celulasas también son utilizadas en la industria de los detergentes. La enzima degrada las microfibrillas que se separan parcialmente de las fibras principales, restituyendo a las fibras una superficie suave y a la prenda su color original (ver Cuaderno N° 73).

Dentro de la industria alimenticia, las celulasas se usan para favorecer la extracción y filtración de jugos de frutas o verduras, filtración de mostos, extracción de aceites comestibles, entre otras aplicaciones.

"El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



En la siguiente tabla se muestra el uso de enzimas celulasas en la elaboración de diferentes alimentos:

Extracción de	Enzimas utilizadas	Acción enzimática
Jugos, a partir de naranja, zanahoria y otros vegetales	Celulasas y pectinasas	Incrementa el porcentaje de extracción y mejora el sabor del jugo
Leche de coco	pectinasas, celulasas, α -amilasas, amiloglucosidasas, proteasas y hemicelulasas	Degradan los polisacáridos presentes en el coco, liberando la leche de coco extra que se encuentra retenida en el residuo del fruto extraído. Se obtiene un jugo más dulce, al liberarse la glucosa como producto de la degradación de polisacáridos.
Almidón de la médula de la palmera Sago (<i>Metroxylon sagu</i>)	Mezcla de enzimas con actividad pectolíticas	Degradan parcialmente los componentes de la pared celular, especialmente las sustancias pécticas, facilitando la liberación de los gránulos de almidón atrapados dentro de las fibras del residuo de sago.
Aceites de oleaginosas	celulasa, hemicelulasa, quitinasa, xilanasa, pectinasa y proteasa	Incremento en el contenido de aceite extraído y aumento de la velocidad de extracción del aceite. Reducción de la rancidez del aceite.
Colorantes de flores de caléndula	celulasa, hemicelulasa y pectinasa	degradación de los componentes de la pared celular, aumentando la extracción del colorante natural (luteína)
Antioxidantes de vid	pectinasa, celulasa y hemicelulasa	Liberación selectiva de los fenoles antioxidantes debido a la degradación de los polisacáridos de la pared celular de la cáscara de uva. También mejoran la actividad antioxidante de los extractos fenólicos.

"El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



Biocombustible, celulasas y biotecnología

Desde mediados del siglo XX se impulsó el desarrollo de energías alternativas basadas en recursos naturales renovables y menos contaminantes, alternativos a los de origen fósil. Así surgieron los llamados biocombustibles (combustibles de origen orgánico) provenientes de la biomasa, o materia orgánica que constituye a todos los seres vivos del planeta.

Uno de los principales biocombustibles es el **bioetanol** o **bioalcohol** que es el alcohol obtenido mediante fermentación de azúcares. El bioetanol puede usarse directamente como combustible en distintos tipos de mezclas que contienen entre el 15% y el 100% de este compuesto.

Los cultivos posibles de utilizar para la elaboración de biocombustibles son: caña de azúcar, maíz, mandioca de alto contenido de carbohidratos, las oleaginosas como soja, girasol y palmas, y algunas especies forestales como los eucaliptos y pinos (ver Cuaderno N° 58).

Como la celulosa es el componente más abundante de la biomasa vegetal, la obtención de bioetanol a partir de este compuesto, es la gran esperanza para un desarrollo sostenible de los biocombustibles.

Sin embargo, como la degradación de la celulosa en unidades de glucosa es un procedimiento lento y costoso, esta etapa se convierte en la principal dificultad económica que obstaculiza el aprovechamiento rentable de esta abundante fuente de energía. Estas dificultades se deben a la limitada disponibilidad y al costo de las enzimas celulasas que se requieren en grandes cantidades, para maximizar el rendimiento de la degradación de celulosa en alcohol.

Una alternativa, que se encuentra en etapa de investigación, es el uso de organismos transgénicos capaces de degradar biológicamente la celulosa en azúcares simples y transformarlos en bioetanol.

Por ejemplo, en algunos grupos de investigación, se está buscando expresar celulasas y otras enzimas degradativas (obtenidas de hongos y bacterias) en cloroplastos de plantas de tabaco. Si se lograra obtener altos niveles de expresión y alta actividad enzimática, el siguiente paso será utilizar este material en ensayos de planta piloto. Finalmente, se espera que el cultivo extensivo de estas plantas cumpla un doble objetivo: obtener biomasa (del cultivo en sí) y enzimas que degradan el material celulósico. Esta conjunción abarataría los costos de producción de bioalcohol.

Otra alternativa es utilizar microorganismos recombinantes que expresen enzimas celulolíticas. Sin embargo, el problema de encontrar el organismo "ideal" para la producción de bioetanol es un proceso complejo. El microorganismo debería:

"El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



- romper la celulosa de forma eficaz, y para ello debería poseer la familia de enzimas celulolíticas,
- fermentar los azúcares a etanol y
- ser tolerante al alcohol producido en el proceso de degradación de la celulosa.

Para producir este organismo ideal, se puede utilizar uno que ya cumpla con algunas de las funciones deseadas de forma natural, y añadirle el resto. Así, se pueden seguir dos alternativas: hacer que un organismo que descomponga la celulosa, produzca etanol o uno que produzca etanol que descomponga la celulosa.

Se están investigando ambos frentes y ya se han logrado, mediante ingeniería genética, levaduras y bacterias termófilas que pueden sobrevivir alimentándose sólo de celulosa y producen etanol.

Por ejemplo, la empresa canadiense logen comenzó en el 2004 la producción piloto de bioetanol celulósico a partir de paja de cereales, utilizando unas levaduras recombinantes para producir más enzimas celulasas. La empresa estimó que una planta comercial de este tipo costaría 5 veces más que una que fabricase bioetanol de grano con la misma capacidad productiva. Uno de los inconvenientes de este proceso es tener que retirar continuamente el etanol porque es un veneno para la misma levadura que lo genera. El siguiente paso en la investigación fue producir otro microorganismo que tolere un 50% más de etanol.

Se están poniendo muchos esfuerzos en la obtención de enzimas con actividad celulolítica, ya que los métodos tradicionales de producción pueden ser demasiado prolongados hasta la obtención de la enzima purificada. Por esta razón nace la necesidad de buscar nuevas alternativas que permitan obtener enzimas en tiempos cortos y con propiedades bioquímicas adecuadas para el proceso en el cual van a utilizarse. En la búsqueda de estas alternativas, la biotecnología permitirá obtener cepas mejoradas genéticamente para la hiperproducción de estas enzimas.

CONSIDERACIONES METODOLÓGICAS

El caso particular de la celulosa y la celulasas es un ejemplo que puede resultar de gran utilidad para abordar en el aula el tema de las biomoléculas, los polímeros y los monómeros, su degradación y el modo de acción enzimática. Al trabajar el tema de las principales biomoléculas que se encuentran en todos los seres vivos se puede realizar una tabla que lo resuma, como la siguiente:

"El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



Polímeros	Elementos que lo forman	Monómeros (unidades)	Función	ejemplo
Carbohidratos o glúcidos	C, H, O	monosacáridos	fundamentalmente energética, también estructural y reserva	glucosa, sacarosa, almidón, celulosa, glucógeno
proteínas	C, H, O, N, S	aminoácidos	fundamentalmente estructural, catalizadores, transporte, regulación, defensa	colágeno (estructural) enzimas (catalizadores), hemoglobina (transporte), insulina (regulación hormonal), anticuerpos (defensa)
lípidos	C, H, O, N, P	ácidos grasos, glicerol	fundamentalmente energética y estructural	colesterol
ácidos nucleicos	C, H, O, N, P	nucleótidos	determinación y expresión de características	ADN, ARN

Se sugiere trabajar con los alumnos cada uno de los aspectos que muestra la tabla. Incluso se sugiere abordar este tema en conjunto con docentes de físico-química o química para comprender la estructura química de las moléculas, y los enlaces químicos que unen a los átomos de los diferentes elementos. En este punto, también se puede incluir la idea de polímero, como una molécula constituida a partir de la unión de monómeros, o unidades más simples.

"El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



El concepto de enlace o unión química y la energía que almacena, así como los conceptos de transformaciones físicas y transformaciones químicas, son fundamentales para comprender la obtención de energía a partir de la degradación enzimática de los nutrientes, ya sea en la respiración celular como en la fermentación.

Otro aspecto fundamental a tomar en cuenta es la forma espacial que adoptan todas las moléculas y que resulta fundamental para su actividad e interacción con otras moléculas. En el caso particular de las enzimas, un tipo particular de proteínas que tienen la función de biocatalizadores, la forma espacial que adoptan hace posible el “reconocimiento” con el sustrato. Este reconocimiento está relacionado con la posibilidad de “encaje” espacial entre la enzima y el sustrato específico sobre el que actúa. La pérdida de la estructura espacial (desnaturalización) impide el reconocimiento y, por lo tanto, la actividad enzimática.

En lo que respecta a la especificidad de la acción enzimática es interesante tomar como ejemplo tres tipos de sustancias que están constituidas a partir de unidades de glucosa y, a pesar de eso, la diferente unión de estas unidades, y su disposición en el polímero, hace que las enzimas que actúan sobre ellas sean diferentes. Es el caso del almidón, el glucógeno y la celulosa. Cada una de estas sustancias cumple funciones bien diferentes, y son degradadas por diferentes enzimas, a pesar de tener una estructura química similar. Hasta tal punto es importante la especificidad enzimática que la celulosa, tema del Cuaderno, no puede ser degradada y aportar nutrientes al cuerpo humano, que carece de las enzimas que la degradan. Sin embargo, el cuerpo humano sí posee y aprovecha el almidón y el glucógeno.

Otro aspecto que puede derivar de la lectura de este Cuaderno es el referido a los mecanismos de degradación de biomoléculas, como fuentes de energía. Ya sea mediante la respiración celular (aeróbica) o mediante la fermentación (anaeróbica), los diferentes organismos degradan las biomoléculas, y la ruptura de los enlaces libera la energía contenida en ellos. Esta actividad es propia del metabolismo de cada organismo, y su utilización en la industria (textil, del papel, etc.) no es más que el aprovechamiento que el hombre ha aprendido a hacer de los recursos naturales a su alcance. En este sentido, es importante trabajar con los alumnos el tema de los recursos naturales, su carácter de renovables o no renovables, y las posibilidades que puede ofrecer la biotecnología moderna para aprovechar estos recursos de forma más eficiente de modo de evitar un desgaste excesivo. El concepto de sustentabilidad puede ser incorporado y trabajado en clase para apoyar esta idea.

ACTIVIDADES

"El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



Actividad 1: Revisión de conceptos teóricos

En esta actividad se propone repasar algunos de los conceptos trabajados en el Cuaderno a partir de completar el siguiente texto con los siguientes términos: MEMBRANA CELULAR, ORGANISMOS CELULOLÍTICOS, CELULOSA, *TRICHODERMA REESEI*, ENDOGLUCANASA, CELULASAS, EXTREMÓFILOS, EXOGLUCANASA, B-1,4 GLUCOSÍDICOS, CELOBIASA, GLUCOSA.

La _____ es un polímero cuya fórmula química es $C_6H_{10}O_5$. Es el principal componente de la _____ de la mayor parte de las plantas. La celulosa está constituida por unidades de _____, unidas entre sí por enlaces _____. Generalmente es resistente a la degradación, pero eso no significa que no se pueda hidrolizar, pues existen que poseen enzimas especiales para ello. Al conjunto de estas enzimas se las conoce como _____, y en él podemos encontrar a las _____ y _____, las cuales actúan de manera sinérgica, es decir coordinada.

Existen varios microorganismos con actividad celulolítica y entre los más conocidos se encuentra el hongo filamentoso _____. Actualmente, muchos científicos están interesados en encontrar microorganismos _____ que puedan degradar celulosa, ya que pueden actuar bajo condiciones extremas de PH y temperatura, optimizando su crecimiento en forma industrial.

Respuesta:

La celulosa es un polímero cuya fórmula química es $C_6H_{10}O_5$. Es el principal componente de la membrana celular de la mayor parte de las plantas. La celulosa está constituida por unidades de glucosa, unidas entre sí por enlaces β -1,4 glucosídicos. Generalmente es resistente a la degradación, pero eso no significa que no se pueda hidrolizar, pues existen organismos celulolíticos que poseen enzimas especiales para ello. Al conjunto de estas enzimas se las conoce como celulasas, y en él podemos encontrar a las endoglucanasa, exoglucanasa y celobiasa, las cuales actúan de manera sinérgica, es decir coordinada.

Existen varios microorganismos con actividad celulolítica y entre los más conocidos se encuentra el hongo filamentoso *Trichoderma reesei*. Actualmente, muchos científicos están interesados en encontrar microorganismos extremófilos que puedan degradar celulosa, ya que pueden actuar bajo condiciones extremas de PH y temperatura, optimizando su crecimiento en forma industrial.

Actividad 2: Microorganismos, biotecnología y biocombustibles

"El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



En esta actividad se propone observar la figura que representa la obtención de bioetanol a partir de restos vegetales, como la madera o la paja.

Para el análisis de la misma, se propone responder el siguiente cuestionario.

Figura:



Fuente:

http://www.international.inra.fr/es/investigaciones/ejemplos_de_investigaciones/hongos_filamentosos_y_produccion_de_los_biocombustibles_del_futuro

PREGUNTAS:

1. ¿Cuál es la materia prima de la cual se extrae etanol? ¿Por qué se emplea esta materia prima?
2. ¿Qué función cumple el hongo *Pycnoporus cinnabarinus*?
3. ¿Qué función cumple el hongo filamentoso *Trichoderma reesei*?
4. ¿Qué se obtiene como resultado de la acción celulolítica de este hongo?
5. ¿Qué se hace con la glucosa?
6. ¿Cuál es la utilidad de este producto?

RESPUESTAS:

1. Se extrae a partir de madera y/o paja, las cuales poseen gran cantidad de celulosa.
2. Son los hongos utilizados para la degradación de las ligninas que se encuentran en la madera o paja. Este paso es muy importante debido a que se debe separar la lignina del resto de los componentes de la madera: celulosa y hemicelulosa.
3. Rompe o hidroliza las moléculas de celulosa y hemicelulosa.

"El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



4. Debido a que *T. reesei* posee las tres enzimas para degradar celulosa (endoglucanasa, exoglucanasa y celobiasa), se obtiene glucosa como producto de la degradación total de la celulosa.
5. Se la somete a fermentación con levaduras, el cual es un proceso anaeróbico realizado por estos microorganismos que degradan, como parte de su metabolismo, la glucosa en etanol.
6. El etanol obtenido por fermentación puede tener muchos usos. En este caso, es mezclado en distintas proporciones con gasolina para producir biocombustible o bioetanol.

Actividad 3: Análisis y comparación de textos

Artículo 1: Acumulación de celulasas en semillas de maíz transgénicas

Publicado el 08/11/2007 en la sección "Novedades en el mundo" de www.porquebiotecnologia.com.ar

Uno de los pasos clave para la producción de bioetanol a partir de biomasa lignocelulósica es la transformación de los polisacáridos de las paredes celulares de las plantas en azúcares más simples. Este paso debe ser catalizado por un grupo de enzimas llamadas celulasas. Los sistemas actuales de producción, la mayoría basados en la obtención y extracción de las enzimas de hongos y bacterias, son aún muy caros como para ser empleados en procesos a escalas tan grandes como la obtención de biocombustibles. La celulosa en realidad es degradada a través de la acción sinérgica de al menos dos enzimas celulolíticas: la endonucleasa, responsable de romper la cadena de celulosa internamente, y la exonucleasa, que la corta desde los extremos. Un grupo de científicos de Estados Unidos logró producir líneas de maíz transgénico que fabrican a las dos enzimas, en la proporción (1 endonucleasa : 4 exonucleasas) necesaria para la digestión eficiente de la celulosa. Mientras que otros sistemas transgénicos han demostrado ser problemáticos en la obtención de la relación correcta, la producción en semillas de maíz ha demostrado ser la esperada. Además, la expresión de estas enzimas resultó estable durante varias generaciones. El trabajo fue publicado en la revista *Plant Biotechnology Journal*.

Artículo 2: Levaduras OGM para la producción de bioetanol a partir de desechos agrícolas

Publicado el 01/07/2004 en la sección "Novedades en el mundo" de www.porquebiotecnologia.com.ar

La Universidad de Purdue (EEUU) obtuvo una cepa de levadura genéticamente modificada capaz de producir bioetanol a partir de residuos celulósicos que habitualmente se desechan o se destinan a la alimentación animal. La levadura OGM produce un 40% más de bioetanol a partir de azúcares derivados de residuos, como cañas de maíz y paja de trigo, que las levaduras comunes. Los residuos agrícolas están compuestos principalmente por celulosa y hemicelulosa. A diferencia de las fuentes tradicionales que se usan para la obtención de etanol, como los granos de maíz y el jugo de la caña de azúcar, los desechos agrícolas contienen dos azúcares principales, la glucosa y la xilosa. Este último, que constituye el 30% de los desechos celulósicos, no puede ser fermentado por las levaduras comunes. Los científicos de Purdue modificaron genéticamente las levaduras introduciendo tres genes adicionales que permiten convertir la glucosa y también la xilosa, en etanol. La empresa logen obtuvo la licencia no exclusiva para emplear las levaduras desarrolladas por la Universidad de Purdue. Su planta piloto de Ottawa (Canadá), es la primera en el mundo capaz de producir bioetanol a partir de desechos, y gracias a estas levaduras, ahora está obteniendo el combustible a partir de paja de trigo. La posibilidad de obtener bioetanol a partir de desechos

"El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



agrícolas significa un avance enorme en la industria de los biocombustibles, ya que lo transforma en un proceso más rentable, al abaratar considerablemente los costos de la materia prima.

Se propone completar la siguiente tabla para el análisis y comparación de los dos artículos. (En azul, las respuestas)

	Artículo 1	Artículo 2
¿En dónde se realizó la investigación?	Estados Unidos	Estados Unidos
En que año se publicaron los resultados de la investigación?	2007	2004
¿Cuál es el organismo genéticamente modificado en esta investigación?	Una línea de maíz	Una cepa de levadura
¿Cuál es la nueva característica de este OGM?	Produce enzimas con actividad celulolíticas	Produce un 40% más de bioetanol a partir de azúcares derivados de residuos vegetales
¿Cuántos genes nuevos se insertaron?	2 genes que codifican para enzimas endonucleasa y exonucleasa	3 genes que permiten convertir la glucosa y la xilosa en etanol

MATERIAL DE CONSULTA

Etanol celulósico y de maíz. Comparación de los dos procesos

<http://www.gestiopolis.com/economia/etanol-y-biocombustibles-en-latinoamerica.htm>

Preparativos de celulasas comerciales y aplicaciones en procesos extractivos

http://www.ujat.mx/publicaciones/uciencia/diciembre2005/celulasa_art6.pdf

Sitio Advanced enzymes. Se encuentra la descripción de las enzimas estudiadas celulasas, xilanasas, entre muchas otras.

<http://enzymeindia.com/enzymes/cellulase-spanish.asp>

<http://enzymeindia.com/enzymes/xylanase-spanish.asp>

Bioinformática de celulasas. Descripción de enzimas celulasas y microorganismos que las producen.

http://recursostic.javeriana.edu.co/wiki/index.php/Bioinform%C3%A1tica_de_Celulasas

La próxima generación de etanol combustible. De Novozymes

http://www.novozymes.com/NR/rdonlyres/5AA042CC-A723-4589-A279-FEA340424E09/0/ES_ethanol.pdf

"El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



Producción biotecnológica de alcohol carburante I: obtención a partir de diferentes materias primas. http://www.interciencia.org/v30_11/671.pdf

"El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.