

# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

---

FACULTAD DE QUIMICA



EXAMENES PROFESIONALES  
FAC. DE QUIMICA

APROVECHAMIENTO MICROBIOLÓGICO  
DE LOS RESIDUOS LIGNOCELULÓSICOS  
GENERADOS EN LA INDUSTRIA MADERERA.

**Trabajo Monográfico de Actualización**

QUE PRESENTA:  
ANA LUISA GARCIA VERA  
PARA OBTENER EL TITULO DE:  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

MEXICO, D. F.

1989

**FALLA DE ORIGEN**



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## INDICE

INTRODUCCION .....	1
PANORAMA ECONOMICO DE LA INDUSTRIA MADERERA .....	5
ESTRUCTURA Y COMPOSICION QUIMICA DEL MATERIAL LIGNOCELULOSICO .....	11
Estructura de las paredes celulares de las plantas.....	11
Composición química .....	13
HIDROLISIS DEL MATERIAL LIGNOCELULOSICO .....	18
Hidrólisis de la celulosa .....	18
Hidrólisis enzimática de la celulosa .....	19
PRETRATAMIENTO DEL MATERIAL LIGNOCELULOSICO .....	22
Pretratamientos físicos .....	23
Pulverización o molido .....	23
Irradiaciones .....	24
Explosión con vapor .....	26
Pretratamientos químicos .....	28
Hidrólisis ácido .....	29
Hidrólisis alcalino .....	31
Pretratamientos biológicos .....	35

BIOTECNOLOGIAS DE LOS RESIDUOS LIGNOCELULOSICOS.....	37
Sacarificación microbiológica de la celulosa .....	39
Obtención de etanol a partir de la celulosa .....	49
Enriquecimiento proteico del material lignocelulósico .....	61
HONGOS COMESTIBLES .....	66
Bases ecológicas del cultivo de hongos .....	68
Bases fisiológicas para el cultivo de hongos .....	71
Técnicas de cultivo .....	78
Técnicas extensivas de cultivo .....	79
Técnicas intensivas de cultivo .....	81
CONCLUSIONES .....	94
APENDICE .....	101
Maderas mexicanas .....	102
Nomenclatura de maderas suaves comerciales .....	108
Microorganismos relacionados a la biotecnología de materiales lignocelulósicos mencionados en este trabajo .....	113
GLOSARIO .....	115
BIBLIOGRAFIA .....	119

## INDICE DE TABLAS.

Tabla 1	Producción maderable mundial 1985. (Incluye: madera en rollo, tableros contra- chapados, madera aserrada de coníferas y no coníferas, chapos de madera, tableros de fibra y aglomerados). .....	6
Tabla 2	Producción maderable mundial 1985. (Incluye: pulpa de madera y papeles). .....	6
Tabla 3	Disponibilidad de recursos por regiones de la Cámara Nacional de las Industrias Derivadas de la Silvicultura (CNIDS) 1987. ....	8
Tabla 4	Producción maderable de escuadría 1961-1987....	9
Tabla 5	Enzimas involucradas en la degradación de la celulosa: Celulosas. ....	21
Tabla 6	Análisis de los componentes de las maderas utilizadas como sustratos. ....	30
Tabla 7	Rendimiento de azúcares con distintos pretratamientos. ....	32
Tabla 8	Efecto de la concentración de glucosa en la actividad de la $\beta$ -glucosidasa de <i>Aspergillus</i> <i>niger</i> utilizando p-nitrofenil- $\beta$ -D-glucopira- nosido (PNPG) y celobiosa como sustrato. ....	41
Tabla 9	Leveduras productoras de etanol. ....	54
Tabla 10	Producción de hongos comestibles en 1981 .....	67

Tabla 11 Temperaturas óptimas para el crecimiento de especies cultivables de hongos comestibles diferenciados para el crecimiento del micelio y la formación de cuerpos fructíferos. ....	77
Tabla 12 Cultivo de setas. ....	92
Tabla 13 Tabla de equivalencia de medición forestal. ....	109
Tabla 14 Producción forestal mundial 1985. ....	111
Tabla 14 Producción forestal mundial 1985 (Parte II). ....	112

## INDICE DE FIGURAS.

Fig. 1	Estructura de la pared vegetal. ....	12
Fig. 2	Estructura de la celulosa. ....	14-15
Fig. 3	Estructura de la lignina de abeto, según Adler. ....	16
Fig. 4	Mecanismo enzimático de la sacarificación. ....	20
Fig. 5	Diagrama esquemático de un bioreactor: "Attrition Bioreactor". ....	24
Fig. 6	Alternativas para la utilización de la celulosa. ....	38
Fig. 7	Bioreactor SF-SSF utilizado por Viesturs para un proceso combinado de fermentación en fase líquida y sólida. ....	47
Fig. 8	Producción de etanol a partir de lignocelulosa. ....	50
Fig. 9	Mecanismos de fermentación de la celulosa. ....	52-53
Fig. 10	Producción de etanol por <i>Fichia stipitis</i> y <i>Brettanomyces clausenii</i> según Weyman y Porekh. ....	56
Fig. 11	Diagrama esquemático de un sistema de fermentación en estado sólido para la producción de etanol. ....	59

Fig. 12	Interacciones de los hongos superiores en el ecosistema. ....	69
Fig. 13	Mecanismo propuesto para la reducción de quinones y fenoxirradicales por la enzima celobiosquinono oxidoreductasa. ....	74
Fig. 14	Ciclo de vida del champiñon. ....	75
Fig. 15	Dimensiones para el aserrado de madera. ....	81
Fig. 16	Preparación del sustrato para el cultivo intensivo de hongos comestibles en lignoceluloso. ....	82
Fig. 17	Envases de tela metálica para contener el medio de cultivo, que durante la incubación, se cubren de plástico. ....	86
Fig. 18	Procedimiento para el cultivo del champiñon. ....	90

## INTRODUCCION.

En la presente investigación se pretende llevar a cabo un análisis relacionado con la utilización de la madera, de la cual, en el proceso de transformación a diversos artículos, se obtienen residuos que son desechados aún y cuando existe la posibilidad de utilizarlos en la elaboración u obtención de diversos productos.

El enfoque principal de este trabajo es el evaluar las posibilidades de utilización de los residuos lignocelulósicos. Estos residuos son reincorporados a la naturaleza por medio de lo que se conoce como el ciclo del carbono por microorganismos que se encuentran en los suelos (Alexander, Martin, 1980). Esta reincorporación es lenta y guarda un equilibrio. La industrialización de la madera provoca la acumulación de estos residuos que al ser tirados al medio ambiente son un riesgo ecológico porque rompen con el delicado equilibrio natural (Quintero, Rodolfo, 1985).

Los "residuos" lignocelulósicos representan un gran potencial energético, ya que contienen más del 50% del carbono orgánico existente en el planeta (Fessenden y Fessenden, 1982), de ahí que deben considerarse mejor como recursos y no como residuos.

Actualmente la biotecnología ha tomado mucho auge por sus perspectivas de producción ilimitada y su impacto en la ciencia, tecnología, política y economía. Esta ciencia puede definirse como: "La aplicación de organismos, sistemas o procesos biológicos para la producción de bienes y servicios" (Quintero R, 1985).

En los procesos biotecnológicos se utilizan principalmente recursos renovables como materia prima. Ya que los desechos lignocelulósicos generados en la industria maderera son un recurso natural renovable que se produce durante todo el año, constituyen un material idóneo para el desarrollo de un proceso biotecnológico encaminado a obtener beneficios de los mismos.

Se estima que el desperdicio total de un árbol es del 66.5 % distribuido de la siguiente manera: desperdicio en el árbol (puntas, ramajes y tocones) 16.6%, desperdicio en el aserreo (cortezas=10.9%, aserrín=10.9%, costeras=10.0%, desorille y cabeceo=10.0%, errores de aserreo=2.5%) 44.3% y un desperdicio en el sezonado de 5.6%. La recuperación de maderas aserreas sezonadas es del 33.5%, aunque en realidad se recupera un 20% más al utilizar las costeras, productos de desorille y cabeceo para la fabricación de durmientes, cajas y empaques. Se han aceptado en el comercio y aserreo de maderas los siguientes desperdicios:

1) Trozos de 10" de diámetro en la base menor:

Desperdicio: 42.20% (aserrín=14.45%, costeras=27.85%)

2) Trozos de 20" de diámetro en la base menor:

Desperdicio: 31.55% (aserrín=17.11%, costeras=14.44%)

3) Trozos de 40" de diámetro en la base menor:

Desperdicio: 25.81% (aserrín=18.54%, costeras=7.27%)

(Rodríguez Muñoz, Ricardo, sin fecha).

Como se puede observar entre mayor es el diámetro de la base menor del tronco el desperdicio es menor, esto se debe a que las costeras son aprovechadas para la fabricación de durmientes, cajas y empaques como se mencionó anteriormente.

Si consideramos que la disponibilidad forestal total de la República Mexicana es de 3' 123 215 m<sup>3</sup> rollo (Fuente:CNIDS\*, 1988), la cantidad de desechos generados es considerable, por lo tanto la pérdida económica también lo es.

Es conveniente desarrollar una tecnología para aprovechar dichos residuos ya que se generarían ingresos y productos útiles, que al provenir de materia prima barata disminuyen su precio en el mercado.

\*CNIDS: Cámara Nacional de las Industrias Derivadas de la Silvicultura.

Algunas de las formas propuestas para el aprovechamiento de los residuos lignocelulósicos son: la sacarificación microbiológica ; la obtención de combustibles, etanol, butanol, isopropanol, etc. por medio de fermentaciones microbianas; el enriquecimiento proteico del material lignocelulósico y la producción de hongos comestibles.

Existen hongos comestibles que son capaces de utilizar la lignocelulosa como sustrato para su desarrollo, que pueden ser usados para el consumo humano, así como el material lignocelulósico semidegradado y enriquecido con el micelio de estos hongos que sirve como fertilizante o alimento para rumiantes.

Los usos de estos residuos pueden tener un impacto directo en la economía, ya que el aprovechamiento óptimo de estos genera una gama de productos obtenidos comunmente de otros recursos, por ejemplo sustancias químicas y combustibles derivados del petróleo cuya costo de producción supera considerablemente al de los desechos lignocelulósicos.

## PANORAMA ECONOMICO DE LA INDUSTRIA MADERERA.

México ocupa un lugar importante dentro de la producción forestal mundial. En lo que se refiere a la producción maderable que incluye productos como madera en rollo, madera aserrada, chapas de madera, tableros contrachapados, tableros de fibra y tableros aglomerados México ocupa el noveno lugar con una producción de 24 069 m<sup>3</sup>, que equivale al 0.64 % de la producción forestal mundial (tabla 1). En lo que se refiere a productos procesados de madera como pulpa de madera y papel para diferentes usos, México ocupa el decimoprimer lugar con una producción total de 3 281 toneladas que equivale al 1.00 % de la producción total mundial (tabla 2). En esta área de papel y celulosa existe un déficit causado por la importación de tecnología, materia en proceso e incluso producto terminado, la importación de estos productos es necesaria ya que la demanda de estos es mayor que la capacidad de producción del país (Fuente:CNIDS,1988). El déficit que existe en esta área podría ser contrarrestado si se creara otro sector productivo derivado de la industria maderera que generara ingresos

En México la superficie forestal total es muy amplia (143 654 hectáreas), de la cual existe una disponibilidad de sus

**PRODUCCION MADERABLE MUNDIAL 1985**

**tabla 1**

LUGAR	PAIS	PRODUCCION FORESTAL m <sup>3</sup> *	PORCENTAJE
1	E.U.A.	565 876	15.15
2	U.R.S.S.	465 634	12.46
3	BRASIL	244 280	6.54
4	CANADA	230 776	6.18
5	SUECIA	66 186	1.77
6	FRANCIA	50 640	1.36
7	FINLANDIA	50 431	1.35
8	ALEMANIA OCC.	47 406	1.27
9	MEXICO	24 069	0.64
10	CHILE	17 867	0.48
11	ESPAÑA	17 599	0.47
12	ARGENTINA	14 989	0.40
13	ITALIA	14 255	0.38
14	CUBA	3 548	0.09

\* Incluye: madera en rollo, madera aserrada de coníferas y no coníferas, chapas de madera, tableros contrachapados, tableros de fibra y aglomerados.

**PRODUCCION MADERABLE MUNDIAL 1985**

**tabla 2**

LUGAR	PAIS	PRODUCCION FORESTAL TON *	PORCENTAJE
1	E.U.A.	100 020	33.58
2	CANADA	34 927	10.66
3	SUECIA	16 125	4.92
4	FINLANDIA	15 420	4.71
5	ALEMANIA OCC.	11 379	3.47
6	U.R.S.S.	10 023	3.06
7	BRASIL	7 707	2.35
8	FRANCIA	7 291	2.23
9	ITALIA	5 189	1.58
10	ESPAÑA	4 313	1.32
11	MEXICO	3 281	1.00
12	ARGENTINA	1 395	0.43
13	CHILE	1 208	0.37
14	CUBA	132	0.04

\* Incluye: Pulpa de madera, papel para periódicos, papel para escritura, otros papeles y cartones.

recursos de 3'123 215 m<sup>3</sup> rollo. La región con mayor disponibilidad forestal es la que comprende a los estados de Chiapas, Campeche, Quintana Roo, Tabasco y Yucatán que por su localización geográfica y condiciones climatológicas tiene una gran variedad de especies forestales y ecosistemas, predominando las selvas. Por consiguiente, es la principal región productora de maderas preciosas.

La principal región productora de coníferas y latifoliadas es la que comprende los estados de Michoacán, Guerrero, México y Guanajuato con una producción total de 545 682 m<sup>3</sup> rollo, seguida por la región constituida por los estados de Chihuahua, Sonora, Baja California Norte y Baja California Sur cuya producción total es de 333 786 m<sup>3</sup> rollo. La zona más pobre en cuanto a producción forestal se refiere es la que comprende el Distrito Federal y Querétaro. (tabla 3).

Dichas cifras se reportaron en 1967 fecha en la que existían un total de 896 aserraderos, 1 126 fábricas de cajas, 20 impregnadoras, 36 fábricas de contrachapado, 14 fábricas de aglomerados, 5 fábricas de tableros de fibras, 7 de celulosa, 10 de papel y celulosa, 52 de papel, 20 resineras y 49 talleres de secundarios lo que hace un total de 2 237 industrias forestales distribuidas por toda la República Mexicana. (Fuente: CNIDS, 1988).

**Tabla 3**

**DISPONIBILIDAD DE RECURSOS FORESTALES POR REGIONES DE LA CNIDS 1987**

REGIONES	BOSQUES DE CLIMA Templado y Frio				SELVAS DE CLIMA Calido y Humedo				EXISTENCIAS TOTALES
	CONIFERAS Y LATIFOLIADAS	LATIFOLIADAS	TOTAL	INCREMENTO DE CONIFERAS	SELVAS ALTAS	SELVAS MEDIANAS	TOTAL		
I Chihuahua, Sonora, B.C.N. y B.C.S.	292 056	41 730	333 786	4 711	-	-	-	333 786	
II Durango, Zacatecas y Sinaloa	291 213	34 726	325 939	7 032	-	49 020	49 020	374 959	
III S.L.P., Tamaulipas, N. León Coahuila	35 334	115 919	151 253	453	-	846	846	152 099	
IV Jalisco, Nayarit, Colima, Aguas Calientes	115 823	98 699	214 522	1 727	-	28 920	28 920	243 442	
V Michoacán, Guerrero, Mex Guangajuato	452 981	92 701	545 682	8 279	-	28 180	28 180	573 862	
VI Oaxaca, Veracruz, Puebla, Tlaxcala, Morelos, Hidalgo	192 675	81 340	274 015	3 624	87 698	271 650	359 348	633 363	
VII Chiapas, Campeche, Q Roo Tabasco, Yucatán.	101 099	25 768	126 867	1 304	236 813	432 736	669 549	796 416	
Distrito Federal Querétaro.	9 766	5 522	15 288	214	-	-	-	15 288	
<b>TOTAL</b>	<b>1 490 947</b>	<b>496 405</b>	<b>1 987 352</b>	<b>27 344</b>	<b>324 511</b>	<b>811 352</b>	<b>1 135 863</b>	<b>3 123 215</b>	

Volumen en miles de m<sup>3</sup> rollo.

Fuente: CNIDS, con datos de la Dirección General de Normatividad Forestal, SARH.

De las industrias forestales antes mencionadas el productor potencial de residuos lignocelulósicos es la industria de aserrijo; ésta produjo en 1987 ó 486 m<sup>3</sup> rollo en los que se incluyen tablas, tablonés, durmientes, cuadrados, madera para envases y embalajes y otros productos de escuadría como labrados, madera para chapas y tableros, industrializado, desperdicios de madera, trozas para aserrijo, trozas para chapa, así como la producción de rollizos destinados a ese fin. La composición de la producción maderable de 1981 a 1987 en volumen de miles de m<sup>3</sup> rollo de la escuadría es como se muestra en la tabla 4 (Fuente CNDS, 1988).

En 1987 esta cifra representó un 62.69% de la producción maderable total

**tabla 4**

**PRODUCCION MADERABLE DE ESCUADRIA 1981-1987 \***

Año	1981	1982	1983	1984	1985	1986	1987
Prod	5331.5	5506.7	5399.4	5641.0	6081.7	5508.4	6137.0
Volumen en miles de m <sup>3</sup> rollo							

\* Fuente: CNDS con datos de la Dirección General de Normatividad forestal, SARH

De lo anterior se observa que en todo este tipo de transformación de madera existe una gran cantidad de residuos lignocelulósicos representando estos entre un 25.85% y un 42.20% (Rodríguez Muñoz, Ricardo, sin fecha) que sólo son utilizados en los establos como camas para caballos, vacas, etc., o se acumulan en las industrias en las que se generan.

Darles un uso adecuado beneficiaría en gran medida a varios sectores productivos, redundando esto en una optimización de las técnicas y un mejoramiento económico de dichos sectores.

## ESTRUCTURA Y COMPOSICION QUIMICA DEL MATERIAL LIGNOCELULOSICO.

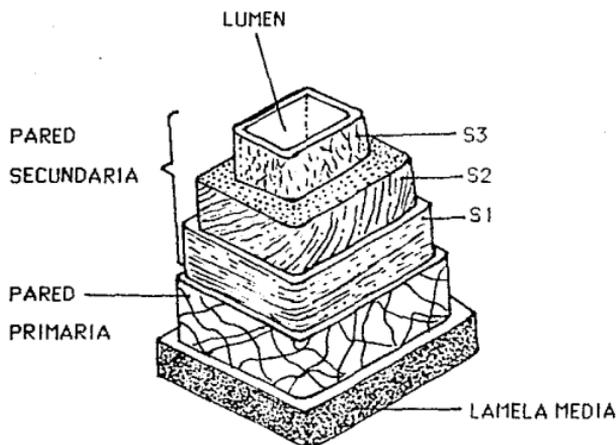
### ESTRUCTURA DE LAS PAREDES CELULARES DE LAS PLANTAS.

Las paredes celulares de las plantas están constituidas generalmente por tres capas. En el caso de la madera, existe una capa más que rodea a las tres primeras.

La capa externa denominada "Lamela media" está constituida por un 50% de lignina y un 20% de hemicelulosa (Gilbert, Ivan G., 1983), estas sustancias actúan como agentes cementantes entre las células para mantenerlas unidas, también son responsables (principalmente la lignina) de otorgar a las paredes celulares la rigidez necesaria para soportar las diferencias de presión osmótica entre los compartimentos extra e intercelulares impidiendo su hinchamiento, de igual manera, son capaces de dar la resistencia a pesos en las plantas superiores como los árboles, así como conferir la protección al ataque microbiológico.

Inmediatamente después se encuentra la pared primaria que contiene aproximadamente de 20 a 25% de celulosa (Gilbert, Ivan G., 1983) La pared secundaria está dividida a su vez en tres capas denominadas S1, S2 y S3. La de mayor espesor y en la que se encuentra la mayor concentración de celulosa es la capa S2.

Dentro de la pared secundaria se encuentra una región llamada lumen, en la que se encuentran los constituyentes celulares en la célula viva, que cuando muere deja huecos que se aprovechan para transportar agua a toda la planta.



**Fig.1 Estructura de la pared celular vegetal. (Gilbert & Tsoo, 1983).**

Cada capa se forma durante un estadio particular de crecimiento de la célula, esta se va rodeando de microfibrillas de celulosa que se disponen en haces paralelos con diferente orientación resultando en una apariencia laminada.

### COMPOSICION QUIMICA.

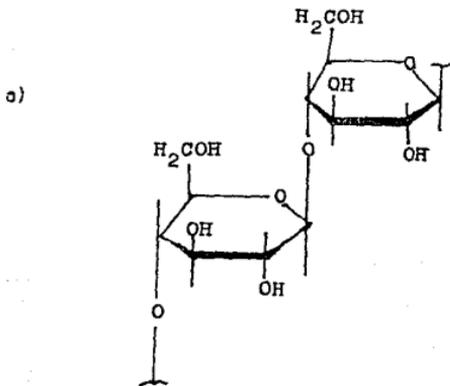
La celulosa es el compuesto orgánico más abundante en la biosfera, se ha calculado que cada año se biosintetizan alrededor de  $10^{11}$  toneladas de celulosa (Fessenden, Ralph J., 1982), es el principal componente de la madera, constituye del 40 al 60% (Quintero R., Rodolfo, 1985), en la que tiene una función estructural más que nutricional (Stryer, L., 1979).

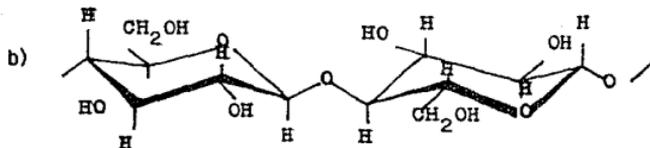
La celulosa es un polisacárido constituido por unidades de D-glucosa en conformación de silla y los grupos hidroxilo en la posición ecuatorial estable, unidos por enlaces glucosídicos B(1-4) formando unidades de celobiosa (cada unidad de celobiosa consiste en dos moléculas de glucosa anhidra), que conforme se polimerizan forman una molécula lineal, plana y sin ramificaciones (fig. 2). Se ha calculado que el peso molecular mínimo de la celulosa oscila entre 50 000 y 2 500 000 que equivale a 300 y 15 000 unidades de glucosa, respectivamente (Lehninger, A., 1982).

La celulosa presenta afinidad por el agua y con un grado de polimerización mayor a seis celodextrinas es insoluble en ella.

Las moléculas de celulosa, que están unidas lateralmente por puentes de hidrógeno (2 por cada molécula de glucosa), y por fuerzas de Van der Waals forman unidades estructurales denominadas microfibrillas (Gilbert, I.G., 1983).

Cuando las moléculas de celulosa están altamente ordenadas se les conoce como celulosa cristalina, las cuales están tan empaquetadas que ni aún una molécula pequeña como la del agua es capaz de penetrarlas, las regiones con menos grado de ordenamiento se conocen como regiones amorfas (Quintero, R. 1985).





**Fig. 2 Estructura de la celulosa. (Fessenden y Fessenden, 1982).**

**a) Forma plana b) forma de silla.**

Las fibrillas de celuloso dentro de cada una de las capas se encuentran aglutinadas por cuatro polímeros: hemicelulosa, pectino, extensino y lignina, además de minerales, grasas, ceras, aceites esenciales, taninos, resinas, carbohidratos solubles y proteínas (Lehninger, A., 1982).

La hemicelulosa está presente de 15 a 50% dependiendo del tejido, tipo de planta y edad de la misma. Es un heteropolímero de pentosas, principalmente D-xilanos que son polímeros de D-xilosa unidos por enlaces  $\beta(1-4)$ ; también están presentes cadenas formadas por  $\beta$ -mananos, galactano y L-arabinanos.

La pectina es un polímero de metil-D-galacturonato y la extensino es una glucoproteína compleja que se encuentra unida a las fibrillas de celulosa por medio de enlaces covalentes.

La lignina constituye el 25% del peso seco de la madera (Lehninger, A.1982); es una macromolécula polifenólica formada por unidades de fenil-propano. La lignina tiene un papel estructural, rodea a las microfibrillas de celulosa, está concentrada en los espacios entre las microfibrillas en las regiones amorfas y entre los cristales de celulosa.

La lignina es el último componente sintetizado por la célula vegetal, se incrementa conforme envejece la planta. Presenta una estructura irregular y ramificada (fig. 3) (Lehninger, A.,1982).

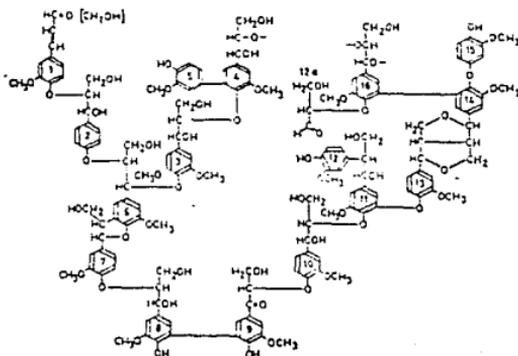


Fig. 3 Estructura de la lignina de abeto, según Adler (Ander y Eriksson, 1978).

La lignina protege a las microfibrillas de celulosa del ataque microbiológico, así mismo es la responsable de otorgar a la planta rigidez y resistencia a los cambios de presión osmótica.

Las sustancias aprovechables por los microorganismos como fuente energética son la celulosa, hemicelulosa, pectina, etc.; mientras que la lignina es el polímero más difícil de degradar; ya que solo un pequeño grupo de hongos conocidos como hongos de la putrefacción blanca y algunas bacterias poseen la maquinaria enzimática necesaria para degradarla.

Desde el punto de vista biotecnológico esto es importante ya que la lignina es una sustancia interferente en los procesos de biodegradación de la lignocelulosa.

## HIDROLISIS DEL MATERIAL LIGNOCELULOSICO.

El material lignocelulósico como tal no puede ser utilizado en ninguno de los procesos antes mencionados, es necesario remover las sustancias interferentes (lignina y hemicelulosa) y posteriormente degradar a la celulosa. La glucosa, uno de los productos de degradación, es una molécula clave involucrada en una serie de reacciones químicas ordenadas que se llevan a cabo en todos los seres vivos y que se conoce como metabolismo. Por medio de este los organismos son capaces de obtener energía y precursores para realizar diversas funciones como crecimiento, reproducción, síntesis de intermediarios, etc., de ahí la importancia de la obtención de glucosa a partir de la hidrólisis de la celulosa.

### HIDROLISIS DE LA CELULOSA

La hidrólisis de celulosa a glucosa puede ser llevada a cabo por métodos fisicoquímicos, enzimáticos o por medio de una combinación de ambos.

A principios del siglo XX se reportaron técnicas de sacarificación de la madera para la producción de etanol y para el mantenimiento de levaduras de consumo humano, mediante el uso de ácidos diluidos a temperatura y presión elevadas, los

rendimientos reportados son casi del 50%, presentando el problema de descomposición de los azúcares reductores debido a la utilización de temperaturas y presiones elevadas (Lee, Y. Y., 1978).

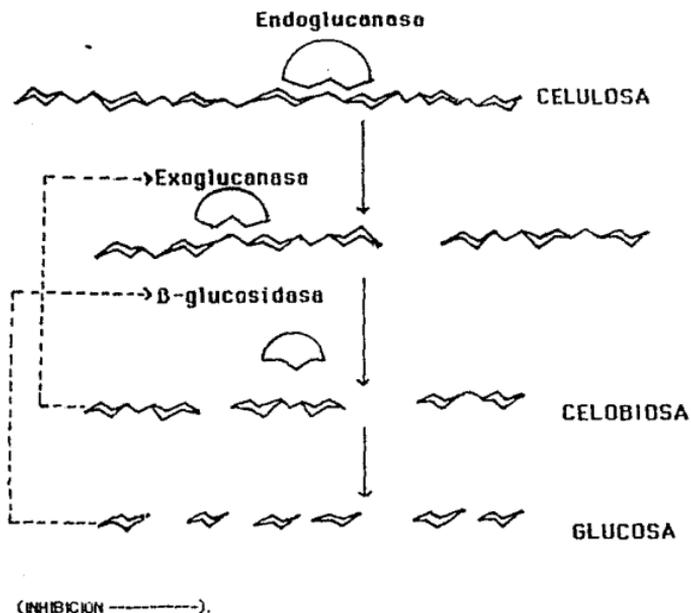
Otra técnica reportada es la hidrólisis con ácidos concentrados a temperatura y presión ambiente cuyo rendimiento es mayor al 50% (Quintero, R., 1985). Actualmente este tipo de procesos no son utilizados prácticamente ya que la recuperación de glucosa es relativamente baja y los costos se incrementan debido a la necesidad de reciclar los reactivos. En las técnicas fisicoquímicas se hace una inversión fuerte en reactivos, energía y tiempo, además se generan residuos contaminantes que no deben ser arrojados al medio ambiente.

#### HIDROLISIS ENZIMATICA DE LA CELULOSA.

Las enzimas involucradas en la hidrólisis de la celulosa a azúcares monoméricos son las celulasas. Las celulasas son un grupo de enzimas que catalizan la hidrólisis de los enlaces  $\beta(1-4)$  glucosídicos presentes en las moléculas de celulosa. Son tres las celulasas involucradas:

Exoglucanasas, Endoglucanasas y  $\beta$ etaglucosidasas (tabla 5) (Gong, 1979). Las endoglucanasas son enzimas que atacan el interior del polímero de glucosa dividiéndolo y exponiendo dos

nuevos extremos; la exoglucanasa actúa sobre los extremos de la cadena produciendo unidades de celobiosa; la betaglucosidasa divide a la celobiosa en dos unidades de glucosa (fig. 4). La glucosa y la celobiosa presentan inhibición por producto final sobre la betaglucosidasa y exoglucanasa respectivamente (Wright, John D., 1988).



**Fig.4 Mecanismo enzimático de sacarificación.(Según John D.Wright).**

La forma principal de regulación de estos enzimas es por retroalimentación o inhibición por producto final, siendo los inhibidores convencionales la glucosa y la celobiosa.

tabla 5

Categoría gen.	Otros nombres	Substratos	Modos de acción.
<b>B-Glucosidasa.</b> (EC 3.2.1.21)	<b>Celobiasa</b>	Celobiosa, posiblemente celotriosa y celotetrosa.	Inhibición no competitiva por producto (glucosa).  Inhibición por sustrato a muy altas concentraciones.
<b>1,4-B-Glucan-celobiohidrolasa</b> (EC 3.2.1.91)	C1 Exoglucanasa Exocelulasa Aricoelasa 1,4-B-celobiosilglicosasa Celobiohidrolasa	Papel filtro, avicel celodextrinas (celobiosa a celopentosa), celulosa tratada con HSPD4, xilana, p-nitrofenil $\beta$ -celobiosido.	Una enzima desorbitante que hidrolitiza a partir del extremo de la cadena, necesaria para la hidrólisis de sustrato con alto grado de cristalinidad. Produce celobiosa que es un inhibidor competitivo.
<b>1,4-B-glucan-glucanohidrolasa</b> (EC 3.2.1.4)	Cx CMCasa Endocelulasa de tipo al azar. Endo 1,4-B-glucanasa. Endoglucanasa.	CMC, celulosa amorfa, celodextrinas (celobiosa a celooxosa), celulosa tratada con ácido.	Caracterizado por la liberación de fibras a partir del papel filtro.  El papel que juega en la hidrólisis no es totalmente conocido.

Enzimas involucradas en la degradación de celulosa: Celulasas.\*

Fuente: Geng, et al, 1979.

## PRETRATAMIENTO DEL MATERIAL LIGNOCELULOSICO

Algunos obstaculos para la degradación de la celulosa son la interferencia de la lignina, de la hemicelulosa y la cristalinidad de la celulosa. El aserrín tiene un contenido de lignina entre 19% y 26% y un índice de cristalinidad de la celulosa de 38, esto significa que un 38% de la celulosa presente en la madera no es accesible a la degradación enzimática porque se encuentra tan densamente empaçada que las enzimas no pueden penetrar en la red de celulosa para degradarla (Quintero,R.,1985). Las investigaciones se han encaminado hacia la búsqueda de métodos eficientes y prácticos para la remoción de lignina y hemicelulosa haciendo a la celulosa accesible para la hidólisis enzimática.

Los pretreatamientos pueden ser divididos en tres tipos: (1)Físicos que incluyen la pulverización del material, el calentamiento y las irradiaciones; (2) químicos en los cuales se utilizan principalmente ácidos y alcalis; y finalmente (3) los métodos biológicos que consisten en la degradación de la lignocelulosa mediante el uso de enzimas específicos.

## PRETRATAMIENTOS FISICOS.

### a) PULVERIZACION O MOLIDO.

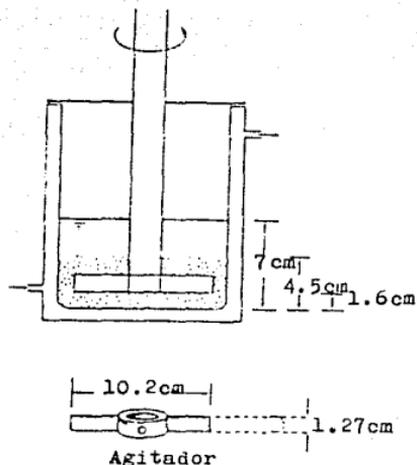
Este método consiste en la ruptura mecánica de la estructura de la lignocelulosa dando como resultado partículas de diámetro pequeño, aumentando así la superficie de contacto sobre la que actúan los celulosos.

S.K. Ryu y J.M. Lee (1983) diseñaron un bioreactor (fig.5) en el que se llevan a cabo simultáneamente el pretratamiento y la hidrólisis de la celulosa. Los autores utilizaron como sustrato serrín y pedacitos de pino y de maderas duras, y obtuvieron muy buenos resultados en la recuperación de azúcares.

El proceso consiste en la trituración del sustrato en un medio líquido utilizando como triturante esferas de acero inoxidable de varios diámetros, obteniéndose los mejores resultados cuando se utilizan esferas de 0.476 cm de diámetro y una velocidad de agitación de 400 rpm.

Se ha reportado que utilizando el proceso de molido en medio líquido la hidrólisis enzimática del material celulósico puede ser incrementada significativamente.

El molido y la hidrólisis simultáneos proveen continuamente sitios accesibles para la sacarificación.



**Fig.5. Diagrama esquemático de un bioreactor "Attrition bioreactor" (S.K. Ryu y J.M. Lee, 1983).**

**b) IRRADIACIONES.**

Se ha reportado el uso de rayos gamma ( Han, Y.W., et al, 1981) y rayos  $\beta$  (rayos de electrones) ( Khan, A.W.; Labrie, J.P. y Mckeown, 1986) para el pretratamiento del material lignocelulósico con el fin de hacerlo susceptible a la hidrólisis enzimática.

Para producir las irradiaciones gamma se utilizan materiales radiactivos como  $^{60}\text{Co}$  y  $^{137}\text{Cs}$ . El material lignocelulósico expuesto es degradado en gran medida y puede ser solubilizado en agua.

Cuando se expone el material lignocelulósico a dosis de radiación de  $10^6$  y  $10^8$  rad, éste disminuye su grado de cristalinidad, sin embargo a estas dosis existe desnaturalización de los hidratos de carbono.

Y.W. Han y colaboradores idearon un método en el que se trate el material lignocelulósico con un agente químico ya sea ácido o alcalí seguido de la irradiación con rayos gama; para evitar la descomposición de los azúcares se controla el tiempo de exposición del sustrato al agente químico y la dosis de radiación es de 50 Mrad máximo.

Aunque el grado de sacarificación por este método es satisfactorio presenta varias desventajas que no lo hace recomendable para el tratamiento del material lignocelulósico; en primer lugar la fuente de rayos gama son isotopos radiactivos que tienen que ser manejados en condiciones estrictas de seguridad por personal capacitado en instalaciones adecuadas. Todo esto incrementa considerablemente los costos del proceso.

Los resultados obtenidos por otras técnicas de sacarificación son tan buenos o mejores que los obtenidos por este método, entonces es preferible utilizar métodos mas económicos y que presenten menos riesgos.

Otro método reportado es el bombardeo del material lignocelulósico por rayos  $\beta$  generados por un acelerador de partículas (Khan, A.W., et al, 1986).

Por medio de este método se destruye la asociación lignina-celulosa, se reduce la cristalinidad de la celulosa y se incrementa la superficie de contacto para la hidrólisis enzimática. Mas del 90% de la celulosa queda expuesta para ser degradada por medio de una hidrólisis enzimática.

Al igual que el método por radiaciones gama este método presenta desventajas que lo hacen impráctico. El equipo necesario para crear el rayo de electrones es muy sofisticado y caro, además de que también se requiere personal especializado para manejarlo.

#### c) EXPLOSION CON VAPOR.

La explosión con vapor consiste en utilizar vapor a presiones elevadas seguido de una descompresión subita.

Por el método de explosión con vapor seguido de la hidrólisis enzimática se han reportado valores de sacarificación de la madera de aproximadamente 95%, sin embargo es necesario remover substancias tóxicas que se generan por la destrucción de la lignina ( San Martín, R., et al, 1986).

H.H. Brownell y colaboradores (1985) reportan que no es necesario utilizar temperaturas muy elevadas (276 °C) cuando la madera es impregnada con un ácido diluido. Las condiciones drásticas de explosión con vapor pueden causar pirólisis del sustrato.

H.H. Brownell y John N. Saddler (1987) comprobaron que la explosión no contribuye con la accesibilidad de la celulosa y que las temperaturas elevadas (240 °C aproximadamente) son innecesarias, sin embargo, a estas temperaturas el tiempo que dura el pretratamiento disminuye y por lo tanto también disminuye la destrucción del pentosano.

La pirólisis y la descomposición del pentosano son indeseables en el pretratamiento de la madera.

El resultado de un pretratamiento adecuado con vapor es un material susceptible a la degradación enzimática.

Morris Wayman y Sarad R.Parekh (1988) reportan un método para la hidrólisis de la madera de pino que consiste en un proceso con saturación de vapor a 200 °C utilizando como catalizador SO<sub>2</sub> ( fig.10.). Con el pretratamiento con SO<sub>2</sub> se obtuvo una mayor recuperación de azúcares (80%) que la obtenida cuando únicamente se utiliza la autohidrólisis, sobre todo cuando se trata de maderas suaves como la de pino.

Cuando se utilizan temperaturas elevadas para la hidrólisis el riesgo de desnaturalización de los azúcares es elevado, por consiguiente es necesario llevar la hidrólisis en pequeños pasos y reciclar el residuo no reaccionado.

#### PRETRATAMIENTOS QUIMICOS.

Se han reportado varios tipos de tratamientos utilizando agentes químicos para acondicionar a la madera para ser degradada o sustancias que pueden ser utilizadas para la obtención de diversos productos.

Se reporta un pretreatmento efectivo utilizando HCl gaseoso a presión elevada (Antonoplis, R.A., et al, 1983); con este pretreatmento la celulosa es mas susceptible a la degradación por medio de una hidrólisis ácida, reportandose en este caso, que la recuperación de glucosa es de 80% y la de xilosa de 90%.

V.P. Puri y H. Memers (1983) utilizaron dióxido de carbono a presión y temperatura elevadas, con lo que también se obtienen altos rendimientos de azúcares.

Otro tratamiento del material lignocelulósico utilizando gases, es el reportado por W.C. Neely (1984), en el que se utiliza ozono. La lignocelulosa pretreada con ozono es mucho mas susceptible a la hidrólisis enzimática y a ser atacada por los microorganismos degradadores de celulosa como los del rumen.

#### HIDROLISIS ACIDA:

Mediante la hidrólisis ácida se remueven la hemicelulosa y lignina creando poros en la red celulosa-hemicelulosa-lignina haciendo accesible a la celulosa para las celulasas.

Existen varios estudios en los que se observa que el pretratamiento con  $H_2SO_4$  diluido a distintas temperaturas [120-160 °C (Torget,R., et al,1988), 220°C ( Lynd,L.R. y Grethlein, H.E.,1987), 180-230 °C (Grethlein,H.E., et al,1984)] genera rendimientos de azúcares mayores al 95% cuando se utiliza una mezcla de maderas duras como sustrato, en cambio cuando se utilizan maderas suaves como la de pino como sustrato el rendimiento es del 65%, los autores creen que el bajo rendimiento de azúcares obtenido cuando se utiliza madera de pino como sustrato, se debe a la poca cantidad de poros presentes en la madera. Las condiciones de pretratamiento utilizadas(180-230 °C y una concentración de  $H_2SO_4$  de 0-1.23%) no son suficientes para exponer la matriz de celulosa en el pino. La accesibilidad del sustrato a la hidrolisis enzimática es limitada resultando en bajos rendimientos de azúcares. También se observa en un análisis de los componentes de los sustratos que el contenido de lignina es mayor en la madera de pino que en las maderas duras; y el contenido de azúcares totales en el pino es menor que el de las maderas duras.(tabla 6).(Grethlein,H.E.,1984).

tabla 6

**Análisis de los componentes de las maderas utilizadas como sustratos.**

	PINO (%)	MADERAS DURAS (%)	EXTRACTO DE PINO CON VAPOR (%)
Glucosa potencial	42.0	42.0	49.7
Otros azúcares potenciales:			
Xilosa	6.6	20.0	4.0
Manosa	10.8	2.7	6.2
Galactosa	3.6	1.6	—
Arabinosa	1.7	0.6	—
Extractos	9.5	4.5	1.1
Lignina con cenizas	24.6	22.0	30.0

Fuente: Grethlein, H.E., et al, 1984.

Cuando la hidrólisis ácida se realiza a altas temperaturas el consumo de ácido disminuye pero existe el riesgo de que los azúcares producidos se desnaturalicen.

El objetivo de una predigestión ácida es el aumentar el volumen de poros, se ha observado que el tamaño y número de poros es un factor determinante para la utilización del sustrato sólido por los microorganismos celulolíticos.

M.M. Gherpurey y colaboradores (1983) hacen una comparación de pretreatamientos químicos y físicos encontrando que el menor índice de cristalinidad y el mayor decremento de lignina se logra mediante un pretreatamiento con ácido peracético.

En general todos los pretreatamientos ácidos dan buenos resultados, el que se elige uno u otro depende del precio del ácido en el mercado; siendo generalmente el más económico el ácido sulfúrico por lo tanto es el más utilizado, además de que el ácido sulfúrico, aunque es un reactivo que tiene que ser manejado con cuidado, presenta menos problemas de manejo que otros ácidos como por ejemplo el ácido clorhídrico que se volatiliza muy fácilmente, produciendo vapores corrosivos y altamente tóxicos.

#### HIDROLISIS ALCALINA:

El pretreatamiento más comúnmente utilizado para aumentar la digestibilidad del material lignocelulósico es aquel que utiliza hidróxido de sodio a diferentes concentraciones y temperaturas de reacción.

Además del hidróxido de sodio, otras sustancias alcalinas que han sido investigadas para el pretreatamiento de la lignocelulosa son:  $\text{NH}_3$ ,  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ,  $\text{Ca}(\text{OH})_2 + \text{Na}_2\text{CO}_3$  (Playne, M.J., 1984),  $\text{H}_2\text{O}_2$  alcalino (peróxido de hidrógeno con un pH de 11.5 ajustado con hidróxido de sodio) (Gould, J. Michael, 1984 y 1985).

Cuando se utiliza un pretratamiento alcalino, explosión de vapor o una combinación de ambos se observa un incremento en la producción de materia orgánica por kilogramo de peso seco de bagazo como se muestra en la tabla 7.

tabla 7

**Rendimiento de azúcares con distintos pretratamientos.**

PRETRATAMIENTO.	MATERIA ORGANICA OBTENIDA.	
	g/Kg de bagazo	%
NaOH	733	73.3
Ca(OH) <sub>2</sub> + Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	733	73.3
NH <sub>3</sub> (líquido)	430	43.0
Ca(OH) <sub>2</sub>	724	72.4
Explosión con vapor	610	61.0
Explosión con vapor+alcalí	740	74.0
Digestibilidad del bagazo sin pretratamiento.	190	19.0

Fuente: Playne, M.J., 1984.

El reactivo más costoso es la solución de amoniaco, sin embargo este puede ser reciclado, además de que sirve como fuente de nitrógeno para los microorganismos.

El reactivo más económico según estudios hechos en Australia, Estados Unidos y Europa es el hidróxido de calcio.

Un proceso en el que se reporta una eficiencia del 100% es aquel que utiliza un pretratamiento con  $H_2O_2$  alcalino (pH=11.5) a 25 °C. seguido de la hidrólisis de la fracción insoluble con celulasas de *Trichoderma reesei* (Gould, J. Michael, 1984)

El peróxido de hidrógeno alcalino puede ser recirculado hasta 6 veces cuando se ajusta el pH. El resultado es una disolución de hemicelulosa concentrada y productos solubles de la degradación de lignina.

Para mejorar los pretratamientos y así obtener mejores resultados con menor gasto de reactivos o/y energía se han ideado una serie de métodos utilizando otras sustancias químicas, tal es el caso del pretratamiento que utiliza hipoclorito de sodio ( $HClO-NaClO$ ) a temperatura ambiente probado para la degradación de madera de eucalipto; con éste se elimina una fracción importante de lignina y la modificación de la estructura química de la celulosa es menor. La mayor eficiencia se logra con un pH entre 7 y 9 (David, L., et al, 1985).

Cuando la lignocelulosa se trata con tartrato de sodio se observa un incremento considerable en la superficie de contacto accesible a las celulosas, semejante al que se observa cuando se utiliza hidróxido de sodio para el pretratamiento ( Lin,K.W., et al, 1985; Hamilton,T.J., et al, 1984).

El etilenglicol es muy efectivo para incrementar el área de contacto ya que es muy eficiente en la deslignificación (Gharpuray,M.M.,et al, 1983).

Otros alcoholes utilizados son el butanol y etanol reportándose una remoción de lignina de 83% y 75% respectivamente. Cuando se utiliza etanol como solvente, el índice de cristalinidad disminuye. La lignina queda disuelta en el solvente y puede ser utilizada ( Ghose,T.K., et al, 1983).

Se ha visto que los pretratamientos son necesarios para incrementar la digestibilidad del material lignocelulósico. Son muchos los químicos utilizados con este fin, que producen un incremento considerable en la digestibilidad del material lignocelulósico siendo los mas comunmente usados los alcalis. No hay que perder de vista que en todos estos procesos se generan aguas residuales que no pueden ser arrojados al medio ambiente porque son contaminantes.

Aunque existen reactivos mas económicos que otros, todos implican una inversión que incrementa el costo del proceso encareciendo el producto final.

Otra opción para el tratamiento del material lignocelulósico es el utilizar enzimas específicas para degradar cada uno de los polímeros que lo constituyen.

#### PRETRATAMIENTOS BIOLÓGICOS.

Como ya se ha mencionado el principal obstáculo para la degradación de la celulosa es la interferencia de la lignina.

Existen algunos microorganismos que son capaces de degradar lignina, tal es el caso del actinomiceto *Streptomyces viridosporus* cepa T7A. Este actinomiceto fue cultivado en paja de maíz en un cultivo sólido dando como productos material rico en celulosa designificado y un polímero de lignina polifenólico modificado soluble en agua que es precipitado en medio ácido. Presenta la desventaja de que el proceso es muy lento, de 6 a 8 semanas para degradar 36% del peso seco de lignocelulosa y se obtiene una recuperación de 98 mg/g de material lignocelulósico inicial (Trip Adhi, et al, 1988).

La ventaja es que además de obtener material rico en celulosa accesible a la hidrólisis enzimática, también se obtiene el polímero de lignina modificado que tiene varios usos, por

ejemplo, como antioxidante, se ha encontrado que tiene propiedades inmunoadyuvantes y como sustancias fenólicas tiene otras posibilidades comerciales (Trip Adhi, et al, 1988).

También existen varias patentes que registran enzimas purificadas que degradan y/o modifican la lignina como las enzimas rLDMC 198 1, rLDM+ 198 2, rLDM+ 198 3, rLDM+ 198 4, rLDM+ 198 5, rLDM+ 198 6 producidas por un mutante denominado SC 26 que produce grandes cantidades de estas enzimas (Farrell, Robetro L., 1988).

Todos los procesos ya sean físicos, químicos, biológicos o combinaciones de estos dan como resultado un material deslignificado rico en celulosa accesible a las celulasas.

## BIOTECNOLOGIAS DE LOS RESIDUOS LIGNOCELULOSICOS

Como se mencionó anteriormente, la celulosa es una fuente natural que puede ser aprovechada para la obtención de diversos productos mediante el uso de diferentes tecnologías. Entre los procesos biotecnológicos propuestos se encuentra la producción de monosacáridos, combustibles líquidos, biogás, proteína unicelular, hongos comestibles y el enriquecimiento proteico del material lignocelulósico. También se contemple el desarrollo de tecnologías que permite obtener dos o más productos a la vez. (fig. 6)

Existe mucha información acerca de los microorganismos capaces de realizar estos bioprocesos así como las condiciones óptimas en que estos llevan a cabo la biotransformación de la lignocelulosa.

Para ilustrar la variedad de microorganismos y condiciones estudiadas hasta la fecha se discutirán algunos bioprocesos como son: la sacarificación microbológica, la obtención de etanol y el enriquecimiento proteico del material lignocelulósico.

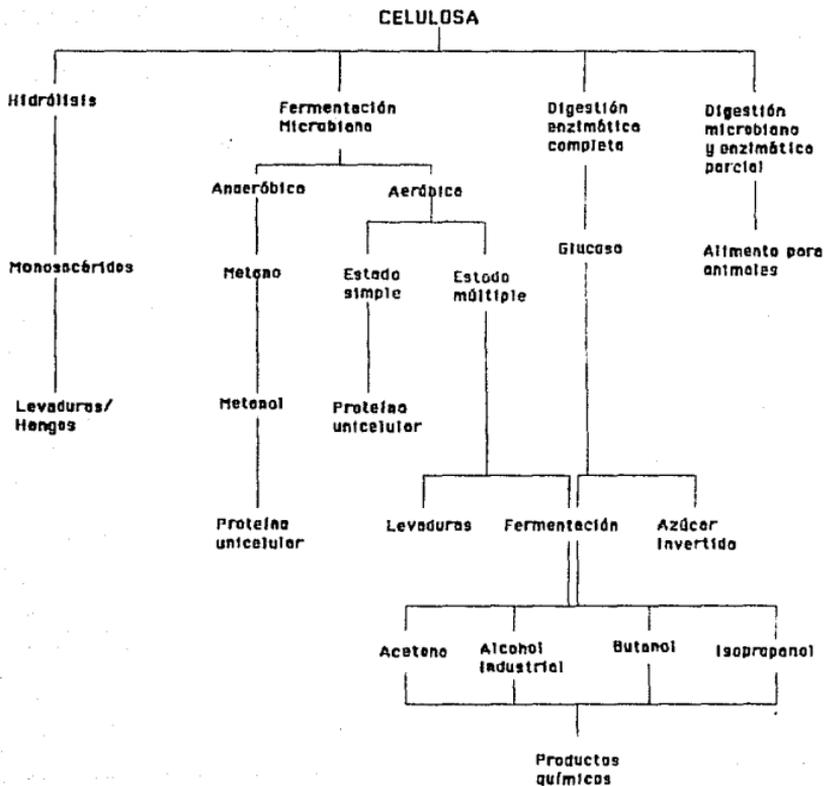


Fig. 6. Alternativas para la utilización de la Celulosa.

(Halliwell, G., 1979).

## SACARIFICACION MICROBIOLOGICA DE LA CELULOSA:

Algunos hongos, actinomicetos y bacterias son capaces de degradar y utilizar la celulosa porque producen los enzimas necesarios para ello: Celulasas. Organismos que han sido objeto de múltiples estudios por su capacidad de producir una gran cantidad de celulasas de alta actividad son los hongos aeróbicos del género *Trichoderma*, entre los que destaca como principal productor *T.reesei*.

Por motivos prácticos y económicos se han tratado de optimizar las condiciones y medios de cultivo, así como la búsqueda de cepas hiperproductoras por medio de técnicas de Ingeniería genética.

*T.reesei* es un excelente productor de endoglucanasas, exoglucanasas y xilosidasas (Dekker, R., 1983), pero es deficiente en betaglucosidasas que son enzimas indispensables para completar la sacarificación de la celulosa. Para compensar la producción de betaglucosidasa se ha propuesto la adición de betaglucosidasa exógena.

Ghose, Panda y Bisaria (1985) proponen un método de sacarificación utilizando un cultivo mixto de *T.reesei* D1-6 y

*Aspergillus wentii* Pt2804, este último crea condiciones fuertemente ácidas en el medio de cultivo inhibiendo el desarrollo de *T.reesei* por lo que se sugiere que se inocule *A.wentii* a un cultivo de 15 h. de *T.reesei*. La fuente de carbono utilizada como sustrato fué una solución de celulosa microcristalina. Los resultados obtenidos son satisfactorios ya que se presentan actividades enzimáticas significativamente altas. *Aspergillus wentii* es un productor de  $\beta$ -glucosidasa.

Otro método propuesto es la adición de  $\beta$ -glucosidasa producida por *Aspergillus niger*. La  $\beta$ -glucosidasa producida por *A.niger* tiene la ventaja de no ser inhibida por altas concentraciones de glucosa (tabla 8); sin embargo presenta una inhibición del 13% de su actividad en presencia de 5% de xilosa (Dekker, Robert F.H., 1986).

En la sacarificación enzimática de la celulosa es necesario que la  $\beta$ -glucosidasa opere a niveles óptimos ya que el porcentaje y velocidad con que se lleva a cabo la sacarificación de la celulosa depende de la actividad de la  $\beta$ -glucosidasa; si la actividad de la  $\beta$ -glucosidasa es baja se produce la acumulación de celobiosa y ésta inhibe a las exoglucanasas retardándose la sacarificación.

tabla 8.

Concentración de glucosa  g/L	AriI-B-glucosidas(a)		Celobiosa	
	Actividad  μmol/min/mL	Actividad relativa  (%)	Actividad  μmol/min/mL	Actividad relativa  (%)
0	19.0	100	251	100
12	17.5	92	223	90
22.5	17.8	93	184	74
30	16.4	86	179	72
60	13.9	73	135	54
90	11.1	59	87	34
120	8.9	47	94	37
150	7.5	40	-	-

Efecto de concentración de glucosa en la actividad de la βetaglucosidasa de *A.niger* utilizando PNPG (1) y celobiosa como sustratos (a). ( Dekker,Robert F.H.,1986).

(1) p-nitrofenil-β-D-glucopiranosido.

(a)El ensayo enzimático consiste en la incubación de la enzima (0.1mL, 1.84 U) con el sustrato (PNPG, 0.4mL, 10mM; celobiosa, 0.5mL, 20g/L), glucosa (0-0.5mL, 300g/L), y buffer de acetatos (50mL, pH5.0) en un volumen final de 1mL a 50°C por 0.5h.

(b)Determinado utilizando p-nitrofenil-β-D-glucopiranosido (PNPG).

Las preparaciones de las celulasas tienen que ser activas, termoestables a altas temperaturas, y resistir altas concentraciones de glucosa por largos períodos de tiempo. Además del sistema de celulasas producidas por *A.niger* antes mencionado, otras celulasas que cumplen con este requerimiento son las producidas por *Sclerotium rolfsii* y *Penicillium funiculosum*, (Mishra, et al,1984); y celulasas de *T.reesei* C-30 que es termotolerante a pH de 5 y produce la hidrólisis de la celobiosa en presencia de una concentración de glucosa mayor a 150g/L (Dekker,Robert F.H.,1986).

Además de los hongos filamentosos existen otros microorganismos productores de celulasas como bacterias y actinomicetos.

*Bacteroides cellulosolvens* es una bacteria mesofítica, anaeróbica, celulolítica, capaz de producir grandes cantidades de celobiosa, glucosa y xilosa a partir de la degradación de celulosa y hemicelulosa (Giuliano, C., y Khan A.W., 1985). La acumulación de azúcares se lleva a cabo en la fase estacionaria de crecimiento; se ha observado que los azúcares acumulados producen inhibición enzimática por retroalimentación o inhibición por producto final; para evitar esto, se hace una diálisis del caldo de cultivo contra

agua a 4°C, cuando el caldo de cultivo es dializado se obtiene un rendimiento de azúcares de 32g/L en lugar de 17g/L que es la producción máxima observado cuando no se dializa el caldo de cultivo.

La mayor cosecha de azúcares se produce cuando se utilizan las células completas de *Bacteroides cellulosolvens* para la sacarificación y no solo una solución de enzimas extracelulares, lo que indica que las enzimas participantes estan asociados a las células y/o son intracelulares. El pH óptimo para la actividad enzimática es 5.0 sin embargo a este mismo pH el crecimiento celular es inhibido (Giulieno, C. y Khen, A.W., 1985).

También se han reportado actinomicetos mesofílicos que son capaces de desarrollarse en bagazo de caña como sustrato. Los actinomicetos celulolíticos de los cepos *Streptomyces nitrosporeus* y *Micromonospora melanospora* producen celulasas extracelulares a pH aproximado de 7.0, a este mismo pH las actividades enzimáticas son óptimas (Van Zyl, W.H., 1985). Las endoglucanases y exoglucanases producidas por estos actinomicetos tienen estabilidad térmica mayor que las celulasas producidas por el género *Trichoderma*, sin embargo se presenta el mismo problema, la acumulación de celobiosa por falta de  $\beta$ -glucosidasa que en este caso es intracelular.

Además de la producción de celulosas, estos actinomicetos también producen xilanasas y  $\beta$ -xilosidasas lo que los hacen capaces de degradar tanto celulosa como hemicelulosa, ambos polímeros presentes en el material lignocelulósico.

Los estudios anteriores se realizan en medios líquidos utilizando como sustratos bagazo de caña molido, disoluciones de celobiosa y p-nitrofenil- $\beta$ -D-glucopiranosido (PNPG) o disoluciones de celulosa pura. Para los fines de este trabajo la sacarificación en medio líquido resulta impráctica porque el material que queremos utilizar como sustrato es sólido, además de los problemas de interferencia que se presentan por sustancias como lignina y hemicelulosa.

Los procesos de fermentación en estado sólido no han sido tan bien estudiados como los procesos de fermentación sumergida, sin embargo una vez que se determinen las condiciones de operación de estos sistemas serán una alternativa para la obtención de ciertos productos a partir de materia prima en estado sólido. Las fermentaciones en estado sólido se asemejan más a las condiciones naturales y de hábitat de los microorganismos. Las principales limitaciones del cultivo en fase sólida son la baja producción de biomasa, la fermentación es lenta y el control de humedad, temperatura y pH es difícil.

Existen estudios al respecto del efecto del contenido de agua y la temperatura en el proceso de fermentación en fase sólida en el crecimiento celular y la producción de celulasa (Kim,J.H.,1985), así como el impedimento estérico del crecimiento del micelio en los cultivos de estado sólido ( Laukevics,J.J.,1985).

En el cultivo en fase sólida el contenido de agua es importante para el crecimiento celular y por lo tanto para la producción de celulasa. J.H.Kim (1985) realizó estudios para determinar el contenido de humedad óptima para el desarrollo de un cultivo mixto de *Trichoderma reesei* y *Sporotrichum cellulophilum* en paja de salvado encontrando niveles de humedad óptimos para el crecimiento de 60% y 70% respectivamente y para la producción de celulasa 47% y 49%.

En los cultivos de fase sólida la densidad de empaquetamiento del micelio es muy baja, esto es, el micelio tiende a extenderse debido a la limitación geométrica que se presenta en el sustrato, sobre todo si el tamaño de los poros y la cantidad de estos es baja. La transferencia de masa y nutrientes es deficiente; la temperatura es difícil de controlar pero la transferencia de oxígeno es mas eficiente que en los cultivos líquidos.

Viesturs y colaboradores(1987) diseñaron un procedimiento que combina ambas tecnologías: la fermentación en fase sólida y la fermentación sumergida para la bioconversión de la lignocelulosa,utilizando para ello un bioreactor SF-SSF (Sumerged Fermentation-Solid State Fermentation).(fig. 7.)

Como sustrato sólido utilizarón paja de trigo molida, que es pretretada para eliminar la lignina y hemicelulosa. Una vez que el exceso de agua ha sido retirado del sustrato pretretado,esté es inoculado con un cultivo de *Trichoderma reesei* o *Carallus versicolor*.

Despuès de 12 a 24 horas de cultivo se hace pasar por la fase sólida una disolución nutritiva. El líquido percolado que arrastra los azúcares producidos por la degradación de la celulosa es colectado en la parte cónica inferior del fermentador en donde es inoculada la levadura *Endomycopsis fibuliger*. Con este proceso se favorece la remoción de azúcares producidos en el cultivo sólido impidiendo que estos se acumulen e inhiban a las celulasas. Los azúcares son utilizados por las levaduras de la fase líquida como fuente de energía para su crecimiento y reproducción así como para la fermentación a otros productos.

SALIDAS PARA AIRE  
Y MUESTRAS DE GAS  
DISPOSITIVO PARA  
AJUSTAR EL NIVEL DEL  
DISCO SUPERIOR

TUBOS PARA LA ADICION

CUBIERTA

CHAQUETA  
ENFRIADORA

VALVULA  
SOLENOIDE

TANQUE PARA  
CORREGIR EL pH  
Y CONTENEDOR DEL  
LIQUIDO ANTIESPUMANTE

EMPAQUES

TUBOS  
PROVEEDORES

CHAQUETA  
ENFRIADORA

EMPAQUE

CUERPO DE VIDRIO

PERNO

EMPAQUE

TERMOMETRO

DISTRIBUIDOR DE  
AIRE

COMPARTIMENTO PARA  
EL SUBSTRATO SOLIDO

DISCO PERFORADO  
INFERIOR

DISCO PERFORADO SUP.

CUERPO DE VIDRIO

PERNO

FERMENTADOR SUMERGIDO

ORIFICIOS PARA LOS  
SENSORES

INYECTOR DE AIRE

Fig. 7. Bioreactor SF-SSF utilizado por Viesturs para un proceso combinado de fermentación en fase líquida y sólida. (Viesturs, et al, 1987).

Comparado con los procesos de fermentación sumergida o fermentación sólida simples, el proceso combinado incrementa la cantidad de biomasa, la producción de celulosas, la bioconversión y la digestibilidad del sustrato sólido.

En resumen los procesos por los cuales se lleva a cabo la sacarificación microbiológica pueden ser utilizando enzimas purificadas o células completas tanto de bacterias, actinomicetos y hongos por medio de fermentaciones sumergidas, sólidas o una combinación de ambas.

En procesos de sacarificación en medio líquido se utilizan principalmente hongos, siendo el principal productor de celulosas *Trichoderma reesei* y sus mutantes aunque también se han estudiado algunas bacterias prometedoras como *Bacteroides cellulosolvens*.

En técnicas de sacarificación de sustrato sólido se utilizan hongos filamentosos como *Aspergillus niger*, *Penicillium funiculosum* y *Sclerotium rolfsii*, que son productores de celulosas, sin embargo, el sustrato sólido tiene que ser pretreatado previamente ya sea por métodos químicos o enzimáticos.

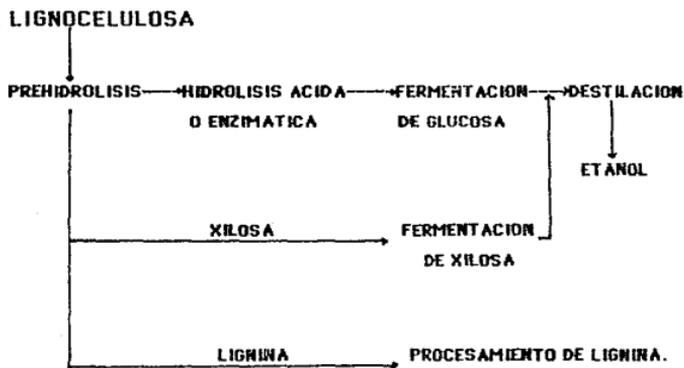
La sacarificación utilizando una técnica combinada de fermentación sumergida y en estado sólido es muy conveniente porque en el mismo fermentador se produce la degradación de sustrato sólido a azúcares que pueden ser utilizados por otros microorganismos como levaduras para la obtención de diversos productos, resultando en un doble beneficio: el de la fase sólida y el de la fase líquida.

Las ventajas que presenta la sacarificación microbiológica son: no se producen contaminantes, el equipo requerido normalmente no es caro, las condiciones de reacción son suaves y las enzimas tienen alta selectividad. Aunque el costo comercial de las enzimas es mayor que el costo de los ácidos, con la sacarificación enzimática no se presenta la descomposición de los productos resultando esto en mayores rendimientos. Para reducir los costos de producción se pueden obtener las enzimas necesarias para la sacarificación en el mismo laboratorio en vez de comprarlas, además que las enzimas pueden ser reutilizadas, o bien pueden utilizarse microorganismos que tengan estas enzimas.

#### OBTENCIÓN DE ETANOL A PARTIR DE LA CELULOSA.

La obtención de etanol a partir de material lignocelulósico es una alternativa para reemplazar la producción de combustibles y productos químicos derivados del petróleo.

Los procesos de hidrólisis enzimática para la producción de etanol consisten en cuatro pasos: pretratamiento del material lignocelulósico, producción de enzimas, hidrólisis y fermentación (fig.8).



**Fig.8. Producción de etanol a partir de lignocelulosa**  
(Wright, John D., et al, 1988).

La fermentación alcohólica es llevada a cabo principalmente por levaduras; desde hace siglos se ha utilizado esta propiedad para la elaboración de bebidas como el vino y la cerveza.

La levadura que ocupa un lugar especial en todos los procesos de fermentación alcohólica es *Saccharomyces cerevisiae*, aunque existen otras levaduras útiles para la producción de etanol.

Algunas levaduras termotolerantes como *Saccharomyces cerevisiae* SERI cepa (D5A), *S.uvarum*, *Candida acidothermophilum*, *C.brassicæ* y *C.lusitaniæ* han sido estudiadas para la implementación de un proceso de sacarificación y fermentación simultáneas (Spindler, D.D., 1988). Se hicieron cultivos puros y mixtos de estas levaduras en donde se observó que los niveles de conversión a temperaturas mayores de 43 °C son altos. Los mejores resultados se obtienen del cultivo mixto de *Saccharomyces cerevisiae* y *Brettanomyces clausenii* a una temperatura de 37°C.

John D. Wright (1988) reportó que el cultivo mixto de *B. clausenii* y *S.cerevisiae* en un proceso de fermentación sumergida (lote) a 37°C produce un 4.5% de etanol partiendo de un 10% de celulosa. Estos experimentos se hicieron utilizando como sustrato celulosa purificada pero el autor asume que los resultados serían los mismos si se utilizara como sustrato una mezcla de maderas duras pretratadas.

*S.cerevisiae* es una levadura termotolerante que soporta altas concentraciones de etanol permaneciendo viable aún

y cuando la concentración de glucosa es baja; *B.claussenii* además de fermentar la glucosa también fermenta celobiosa lo que produce un mayor rendimiento de etanol (Parekh, S.R., 1988); este microorganismo es resistente a altas concentraciones de etanol pero a diferencia de *S.cerevisiae* pierde viabilidad a bajas concentraciones de glucosa y celobiosa (fig.9). La ventaja de utilizar a *B.claussenii* es que no es necesario la utilización de  $\beta$ -glucosidasa exógena para la conversión de celobiosa a glucosa porque este microorganismo es capaz de fermentar la celobiosa a etanol, disminuyendo el costo de producción, la manipulación y aumentando el rendimiento del proceso.

Fig. 9A. HIDROLISIS ENZIMÁTICA DE LA CELULOSA.

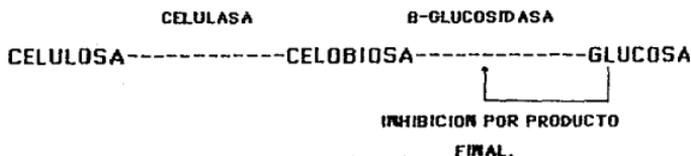




tabla 9

LEVADURAS PRODUCTORAS DE ETANOL.

ORGANISMO	FERMENTA GLUCOSA	FERMENTA CELOBIOSA	ALCOHOL RESISTENTE	TERMOTO- LERANTE
<i>S.cerevisiae</i>	+	-	+	+
<i>S.uvarum</i>	+	-	+	++
<i>C.acidothermo- philium</i>	+	-	+	+
<i>C.brassicae</i>	+	-	+	++
<i>C.lusitanae</i>	+	+	+	+
<i>B.claussenii</i>	+	+	+	+
<i>P.stipitis</i>	+	+	+	+

El interés en que las levaduras sean termotolerantes es debido a que la temperatura óptima de acción de las celulasas esta en el intervalo de 45°C a 50°C; utilizando organismos termotolerantes las temperaturas usadas durante la fermentación son mas cercanas a las temperaturas óptimas de acción de las celulasas, por consiguiente la sacarificación es más efectiva resultando en una mayor producción de etanol.

La resistencia de las celulosas al etanol también es importante, se ha visto que la actividad enzimática de los  $\beta$ -glucosidasas y endoglucanasas no se ve afectada si la concentración de etanol es menor o 4M; la estabilidad térmica de las endoglucanasas tampoco varía por causa del etanol (Ooshima, Hiroshi, et al, 1985).

Como en el material lignocelulósico también están presentes algunas pentosas como la xilosa, se buscan microorganismos capaces de fermentar estos azúcares para incrementar la producción de etanol. Entre estas levaduras se encuentran: *Candida shehatae* (Alexander, M.A., 1988), *Pichia stipitis* (Parekh, S.R., 1988), *Candida sp.* y *Pachysolen tannophilus* (Van Zyl, C., 1988).

*Pichia stipitis* es la levadura que ha sido elegida para muchos estudios porque presenta varias ventajas: además de fermentar xilosa, celobiosa y glucosa es termotolerante y no requiere factores de crecimiento como vitaminas para su desarrollo (Van Zyl, C., et al, 1988).

Waymen y Parekh (1988) reportan una producción record de etanol de 348 Litros/ton. de material lignocelulósico que es igual a 100 galones/ton., éste es la producción mas alta de etanol obtenida de madera que se ha reportado.

El procedimiento que utilizaron consistió en el pretrotamiento de la madera con SO<sub>2</sub> y una disolución de celulósos y hemicelulosas, a la madera prehidrolizada se le inocula un cultivo mixto de *P.stipitis* y *Brettanomyces clausenii*(fig.10).

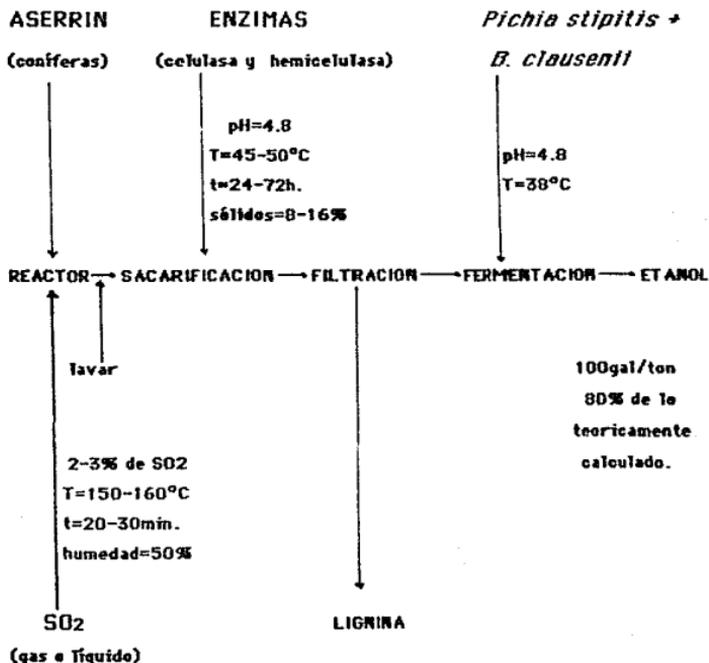


Fig.10. Producción de etanol por *Pichia stipitis* y *Brettanomyces clausenii* según Wayman y Parekh (modificado de la referencia).

Además de las levaduras existen bacterias como *Zymomonas mobilis* que son productoras de etanol (Lowford, H.G., 1988). Se reportó que en un proceso de fermentación continua *Z.mobilis* es más eficiente que las levaduras en un 10%. Se han desarrollado varias tecnologías en las que se utilizan células o enzimas de *Z.mobilis* para procesos de fermentación sumergida, continua, fermentadores de flujo continuo con células o enzimas inmovilizadas, etc. Como los microorganismos utilizados en estas técnicas sacrifican y fermentan celulosa purificada no resultan prácticos para los fines de este trabajo, que son la utilización de los residuos crudos.

Una bacteria termófila que ha sido propuesta para ser utilizada en la conversión de biomasa celulósica en etanol es *Clostridium thermocellum* que es celulolítica y produce etanol como producto de fermentación. En un estudio se utilizó como sustrato una mezcla de maderas duras pretratada con ácido diluido. Los celulosos de *C.thermocellum* son tan eficientes como los celulosos de *Trichoderma reesei* con la ventaja de que se puede llevar a cabo la sacarificación y fermentación en el mismo recipiente cuando se utiliza *C.thermocellum*. (Lynd, L.R. y Grethlein, H.E., 1987).

K.Sato y colaboradores diseñaron un nuevo método para la producción de etanol: la fermentación de almidones en estado sólido.

Para la fermentación utilizaron un cultivo mixto de *Aspergillus saitoi* (produce amilasas) y un mutante de *S.cerevisiae* aeróbico facultativo. Se produce la degradación y fermentación simultánea en un fermentador (fig.11).

La recuperación del etanol producido es por medio de la circulación de gas inerte a través del sustrato sólido. Mas del 90% del etanol producido se recobró durante un período de 15 a 16 días. Aunque los rendimientos son altos el tiempo que tarda la fermentación es mayor que el tiempo requerido en las fermentaciones en medio líquido. El residuo sólido sobrante puede secarse fácilmente y puede ser utilizado como fertilizante o como alimento para animales.

Finalmente, concluyen que esta técnica se puede optimizar utilizando levaduras termofílicas que sean más eficientes en la fermentación, además de hacer mejoras tecnológicas en el equipo utilizado. 

Aunque en este caso el sustrato es almidón o desechos ricos en almidón el método puede adaptarse para utilizar residuos lignocelulósicos.

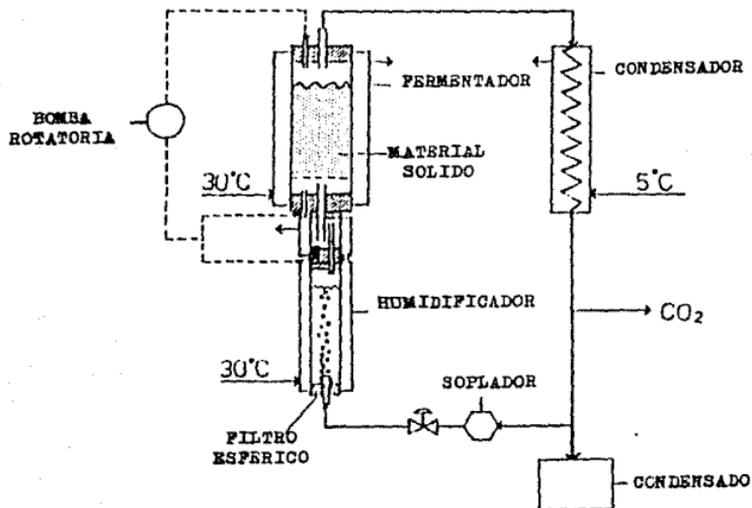


Fig. 11. Diagrama esquemático de un sistema de fermentación en estado sólido para la producción de etanol. (Sato, K., et al, 1985).

Se cree que cuando se utilizan residuos lignocelulósicos como sustrato para la producción de etanol se puede utilizar el fermentador diseñado por K.Sato y colaboradores, y que sólo es necesario cambiar el microorganismo degradador del sustrato, la levadura fermentadora de azúcares puede ser el mismo mutante aeróbico facultativo de *S.cerevisiae*. Los microorganismos que se sugiere sean empleados para la degradación del sustrato lignocelulósicos son: hongos blancos de la putrefacción como *Phanerochete chrysosporium*. La ventaja de utilizar este tipo de hongos es que el sustrato no necesita ser pretratado para eliminar las sustancias interferentes como lignina y hemicelulosa. También se pueden usar hongos filamentosos como *Aspergillus niger*, *Penicillium funiculosum*, etc. o cualquier otro microorganismo productor de celulasa con la desventaja de que el sustrato tiene que ser pretratado previamente con un método enzimático o químico para eliminar a las sustancias interferentes.

En resumen la fermentación alcohólica de residuos lignocelulósicos presenta ventajas económicas con respecto al producto final, sin embargo se presentan dificultades tecnológicas importantes.

En el método utilizado por K.Sato además de la obtención de etanol con un nivel de recuperación bastante considerable también se obtiene un residuo sólido degradado rico en proteínas que puede ser comercializado como alimento para animales.

## ENRIQUECIMIENTO PROTEICO DEL MATERIAL LIGNOCELULOSICO.

Un método prometedor para utilizar los desechos lignocelulósicos es incrementar el contenido proteico de estos con distintos microorganismos para usarlo como alimento para animales, específicamente rumiantes.

La mayor parte de los mamíferos son incapaces de utilizar la celulosa pues no producen las enzimas necesarias para ello, pero los rumiantes hospedan en el tracto digestivo bacterias y protozoarios capaces de degradar la celulosa a glucosa por medio de un proceso anaeróbico (Sánchez, E.G., 1978).

En la naturaleza muchos microorganismos degradan aeróbicamente la lignocelulosa. La celulosa y la hemicelulosa son degradadas por bacterias, actinomicetos y hongos; mientras que la lignina por bacterias y hongos.

Se han reportado numerosos trabajos indicando las condiciones óptimas para el desarrollo de diversos microorganismos en el material lignocelulósico.

N. Peitersen (1975) realizó experimentos de fermentación sumergida con un cultivo mixto de *Trichoderma viride-Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces utilis* obteniendo un incremento del contenido proteico de 2 a 22%, se estima que la cantidad de paja metabolizada fue entre 52-67%.

Según Grant y Anderson (1977) es factible aumentar el valor nutritivo de la paja mediante dos métodos, el primero consiste en la prehidrólisis de la paja con ácido sulfúrico diluido seguido de la inoculación con levaduras; el segundo método utiliza un pretratamiento alcalino y la inoculación de bacterias celulolíticas.

Algunos de los microorganismos estudiados que han dado buenos resultados para el incremento del contenido proteico del material lignocelulósico son: *Chaetium cellulolyticum*. (Chahal,D.S., et al, 1981), *Cellulomonas sp.*, *Trichoderma reesei*, *Endomycopsis fibuluger* (Loukevics,J.J., et al,1984), *Aspergillus japonicum*, *Polyporus versicolor* (Milstein,O.,1986), *Coriolus versicolor* (Viesturs,U.E., et al,1967) y los hongos denominados "hongos de putrefacción blanca"(son hongos capaces de degradar y utilizar los tres componentes básicos del tejido vegetal: celulosa, hemicelulosa y lignina) como *Phanerochete chrysosporium*. (Zetelaki-Horváth,K.,1984) y *Ganoderma applanatum*(Gonzalez,A., et al,1986).

En los bosques trópicos del sur de Chile (región Chiloe) se presenta un fenómeno natural que es aprovechado por los colonos del lugar. Allí se da la putrefacción blanca de la madera denominada "Palo podrido" que ha sido utilizado como alimento para ganado (González,A., et al,1966).

Los organismos que intervienen en la putrefacción de este tipo son principalmente basidiomicetos lignolíticos, entre los que destaca *Ganoderma applanatum*.

El resultado de esta descomposición es una masa con consistencia semejante a un gel de agar, este estado permanece estable por mucho tiempo sin que la humificación y mineralización se presenten. Después de la deslignificación de la madera por *Ganoderma applanatum* se presenta la colonización de esta por diferentes microorganismos, como los celulolíticos *Trichoderma viride*, *Trichoderma sp.*, *Gliocladium deliquescens*, etc.; levaduras que utilizan azúcares simples de los generos *Candida* y *Cryptococcus* así como hongos entomófitos (insectopatógenos) (*Beauveria brassicae*, *Ebrangiartii*, *Metarrhizium anisopliae* y *Paecilomyces farinosus*).

Se han desarrollado tecnologías que aprovechen las propiedades de los microorganismos degradadores de lignocelulosa, pero el enriquecimiento proteico de ésta, tal es el método desarrollado por Kornélie Zetelaki-Horváth. Este método emplea al hongo lignolítico *Phanerochete chrysosporium* (ATCC 32629), que se desarrolla utilizando como sustrato paja de maíz sin pretratamiento, suplementada con fuentes de carbono más accesibles.

El resultado obtenido es un decremento considerable en el contenido de lignina dejando a la celulosa expuesta. El residuo sólido obtenido, rico en celulosa y proteína, puede ser utilizado como alimento para rumiantes.

Como se mencionó uno de los problemas que se presentan en la fermentación en estado sólido es la limitación estérica para el crecimiento de los hongos y la producción de enzimas, además de la dificultad de regular los parámetros de fermentación como son aereación, humedad, mezclado y distribución de temperatura.

La fermentación en estado sólido en un nivel de laboratorio es más adecuada que la fermentación sumergida porque en la primera se produce mayor cantidad de biomasa por unidad de volumen de sustrato. Se reporta que debido a los problemas de control de parámetros en una fermentación sólida a gran escala los resultados que se obtienen no son tan buenos como los obtenidos en fermentaciones sumergidas. De cualquier modo una vez que estos problemas sean controlados, la fermentación en estado sólido es el método más prometedor para la obtención de proteína, por ejemplo. J.J. Laukevics y colaboradores (1984) sugieren que la temperatura de un fermentador en fase sólida puede ser regulada por la remoción evaporativa del calor conectada con el control de la humedad.

V.E. Viestrus y colaboradores (1987) diseñaron un bioreactor que combine ambos tipos de fermentación (fig.7 antes descrita), con esta técnica de fermentación combinada se incrementa el contenido de biomasa en la fase sólida, así como la bioconversión del sustrato y la digestibilidad de este pudiendo ser utilizado como fertilizante o alimento para ganado.

## HONGOS COMESTIBLES.

Ya que el problema de alimentación en los países en vías de desarrollo es cada vez mayor es preciso encontrar nuevas posibilidades y métodos para cubrir las necesidades nutricionales de la población.

Dichos métodos tienen que ser sencillos, de fácil aplicación para ser adaptados a condiciones rurales y económicamente favorables.

Una de las alternativas para solucionar este problema de alimentación es la producción a gran escala de hongos comestibles utilizando como medio de cultivo los desechos lignocelulósicos que se generan en la industria maderera.

Las ventajas que presenta el cultivo de hongos comestibles en materiales de desecho son:

- Los residuos lignocelulósicos son reintegrados al ecosistema por medio de procesos naturales.
- Los polímeros no digeribles o difícilmente digeribles son movilizados y mineralizados.
- Se utiliza material rico en carbono que generalmente no es utilizado para la producción de biomasa.
- Se obtiene un producto con un alto valor nutritivo y excelentes características organolépticas para consumo humano.

- Los frutos se pueden recolectar fácilmente de la superficie del sustrato, quedando una masa semidegradada rica en celulosa y proteína unicelular que puede ser utilizada como fertilizante o como alimento para ganado.

Los hongos que se usan frecuentemente como comestibles son basidiomicetos saprófitos que crecen de manera natural en diversos ecosistemas, algunas especies se cultivan en distintos países desde hace varios años, sobre todo en los países asiáticos y europeos ( tabla 10).

**Tabla 10.**

**Producción de hongos comestibles en 1981.**

ESPECIES	NOMBRE COMUN	DISTRIBUCION	CANTIDAD(TON)
<i>Agaricus bisporus</i>	Champiñon	Mundial	750 000
<i>Lentinus edodes</i>	Shii-ta-ke	Japón	190 000
<i>Hibizascella vulvacea</i>	Hongo chino o de paja	Países tropicales	65 000
<i>Flammulina velutipes</i>	Hongo de invierno	Japón, Taiwan	65 000
<i>Pleurotus sp.</i>	Hongo ostra	Mundial	40 000
<i>Phallota nameko</i>	Nameko	Japón	20 000
<i>Auricularia polytricha</i>	Auricularia	Japón, Taiwan	12 000
<i>Auricularia auricula-rosea</i>	Auricularia	Japón, Taiwan	12 000
<i>Trametes spp</i> otras esp.		Taiwan, Mundial	3 000
<b>TOTAL</b>			<b>1 135 000</b>

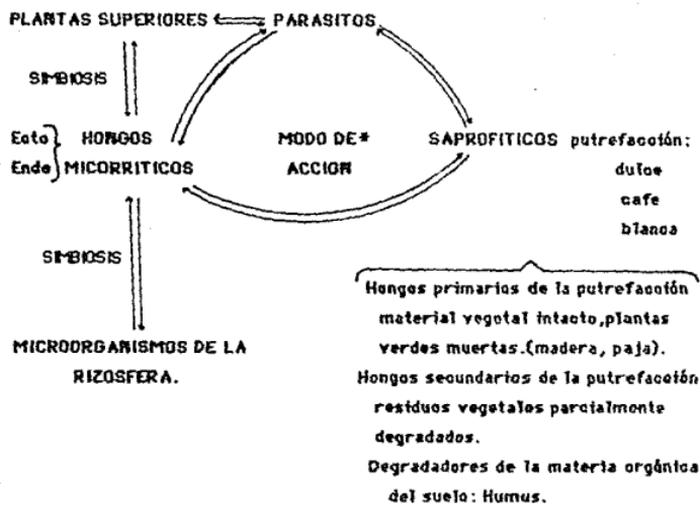
Valores estimados basados en estadísticas publicadas en reportes nacionales. ( Zadrzil, et al, 1983).

## BASES ECOLOGICAS DEL CULTIVO DE HONGOS.

Para poder desarrollar una biotecnología adecuada es necesario comprender el comportamiento de los hongos en su ambiente natural.

En la naturaleza los micromicetos se encuentran como saprófitos utilizando material vegetal muerto; desarrollándose como simbioses (hongos micorrizicos), o como parásitos (ejem. roya del maíz: Huitlacoche) (fig. 12).

Los hongos saprófitos se dividen en tres grupos: hongos de la putrefacción dulce u hongos degradadores de azúcares, que solo son capaces de utilizar como sustato azúcares simples; hongos de la putrefacción café u oscura que utilicen celulosa para su desarrollo, su nombre se debe a que el material vegetal que ha sido degradado adquiere una coloración café oscuro; y hongos de la putrefacción blanca que tienen la maquinaria enzimática necesaria para degradar los tres componentes básicos de la lignocelulosa, lignina, hemicelulosa y celulosa, produciendo su mineralización, el resultado de la degradación del material lignocelulósico por estos hongos es una masa blanco amarillenta con consistencia semejante a un gel de agar (González, et al, 1986).



\* Ejem. *Armillaria mellea* es un parasito oportunista y/o saprófito, también funciona como hongo micorrítico cuando el hospedero son las orquídeas.

Fig. 12. Interacciones de los hongos superiores en el ecosistema. (Zadrazil, et al, 1983).

A los hongos comestibles se les puede clasificar de la siguiente manera:

a) Hongos que se desarrollan en residuos vegetales frescos.

*Lentinus, Pleurotus, Flammulina, Auricularia, Pholiota, Tremella, Agarocybe, Ganoderma, Coprinus.*

b) Hongos que se desarrollan en materiales ligeramente degradados.

*Volvariella, Coprinus, Stropharia.*

c) Hongos que se desarrollan en materiales sustancialmente degradados.

*Agaricus.*

d) Hongos que se desarrollan en el suelo y humus.

*Lepiota, Lepista, Morchella, Gyromitra.*

e) Hongos micorríticos

*Boletus, Tuber, Amanita, Cantharellus, Matsutake, Leclerius.* (Quintero, R., 1985).

Los hongos comestibles más comunes se encuentran en los primeros tres grupos, aunque los hongos micorríticos son muy apreciados y se venden a precios exorbitantes, por ejemplo un Kg. de trufas (*Tuber*) cuesta alrededor de 500 dólares (Zedrazil, et al, 1983).

Los hongos con menos requerimientos nutricionales y que menor cuidado necesitan para desarrollar son los primarios y secundarios de la putrefacción. Se han reportado algunas especies

de hongos primarios que presenten especificidad por el sustrato, por ejemplo, *Sparasis crispa* presenta especificidad para la madera de pino, *Hypholoma capnoides* por las coníferas, también existen especies que no son altamente específicas como *Pleurotus* sp. y *Lentinus edodes*. De la misma manera algunos hongos micorrízicos presentan especificidad por el hospedero.

Los hongos primarios de la putrefacción son los hongos a elegir para el cultivo a gran escala utilizando material lignocelulósico como sustrato ya que son capaces de desarrollarse favorablemente sin necesidad de que el sustrato sea pretratado.

Sin embargo es necesario estudiar detalladamente las condiciones específicas de crecimiento de cada especie, ya que cada una está adaptada para desarrollarse en diferentes condiciones ambientales (temperatura, humedad, aereación, luz, etc.).

#### BASES FISIOLÓGICAS PARA EL CULTIVO DE HONGOS.

Las diferentes especies de hongos comestibles requieren diferentes condiciones físicas, químicas y biológicas de cultivo, así mismo estas condiciones son distintas para el desarrollo del micelio y la formación de cuerpos fructíferos o esporóforos.

Como ya se mencionó algunos hongos tienen especificidad por el sustrato por lo que hay que ser cuidadosos en la elección de la cepa a cultivar y del sustrato a utilizar.

Se ha observado que la mayoría de los hongos se desarrollan satisfactoriamente en un intervalo de temperatura entre 25 y 30°C, sin embargo cuando la temperatura es mayor los hongos se dañan con excepción de *Coprinus timetarius* y *Volvariella volvacea* que están adaptados a climas tropicales (Zadrozi, et al, 1983).

Son de gran importancia factores como la humedad y el intercambio gaseoso del sustrato y del ambiente. La humedad del sustrato adecuada para el desarrollo del micelio y la formación de cuerpos fructíferos es entre 70% y 80% y la humedad relativa del aire entre 80% y 95%.

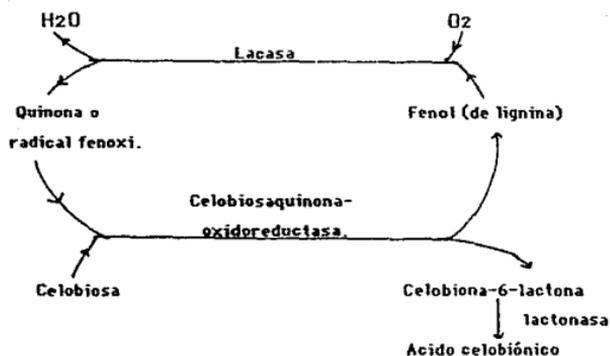
El intercambio gaseoso entre el sustrato y el medio ambiente es de gran importancia. Una acumulación de CO<sub>2</sub> en el sustrato inhibe el crecimiento de microorganismos competitivos, pero también provoca efectos indeseables en el desarrollo de cuerpos fructíferos. Se ha demostrado que el desarrollo de *Pleurotus sp.* se favorece cuando en el sustrato existe una concentración de oxígeno de 2-5% vol.

El pH adecuado para el desarrollo de los hongos es alrededor de 7.0, el pH tiende a disminuir porque al desarrollar el hongo produce ácidos orgánicos. Los basidiomicetos y ascomicetos presentan la propiedad de cambiar el pH a su favor, por ejemplo *Stropharia rugosa annulata* crece en pH de 3.9 inhibiendo así el crecimiento de otros microorganismos que pueden ser competitivos.

Algunos hongos macroscópicos excretan antibióticos que eliminan a los microorganismos competitivos, por ejemplo, algunas cepas de *Agaricus bisporus* (Hochberg, et al, 1981, citado por Zadrozil, 1983).

Las enzimas involucradas en la degradación de la lignina son las denominadas fenoloxidasas que son de tres tipos: Tirosinasa (O<sub>2</sub>-o-difenol oxidoreductasa), Laccasa (O<sub>2</sub>-p-difenoloxidoreductasa) y Peroxidasa (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oxidoreductasa); y la celobiosa-quinona oxidoreductasa. Estas enzimas son necesarias para la degradación de la lignina y de la celulosa (Ander y Eriksson, 1974; González, A., 1986).

Las fenoloxidasas catalizan la descarboxilación oxidativa del ácido vainílico a metoxihidroquinona. Las quinonas formadas en las reacciones de fenoloxidasas son tóxicas para los microorganismos y sus enzimas "in vitro", sin embargo la mayoría de los hongos degradadores de madera poseen enzimas para reducir estas quinonas tóxicas (fig. 13).



**Fig. 13 Mecanismo propuesto para la reducción de quinonas y fenoxirradicales por la enzima celobiosaquinona oxidoreductasa. (Eriksson,K.E., 1988).**

El ciclo de vida de los hongos superiores se divide en dos fases: vegetativa y generativa (fig.14).

En la fase vegetativa se desarrolla el micelio, éste tiene como función absorber los nutrientes del medio y también sirve como soporte para mantenerse fijo.

La fase generativa o de reproducción sexual culmina con la formación del cuerpo fructífero o esporóforo denominado comúnmente hongo, champiñón o seta. Los esporoforos maduros producen esporas sexuales en la parte inferior del sombrero. Cuando las esporas se liberan en un medio adecuado, éstas germinan dando lugar al micelio que a su vez genera los cuerpos fructíferos (Quintero,R., 1985).

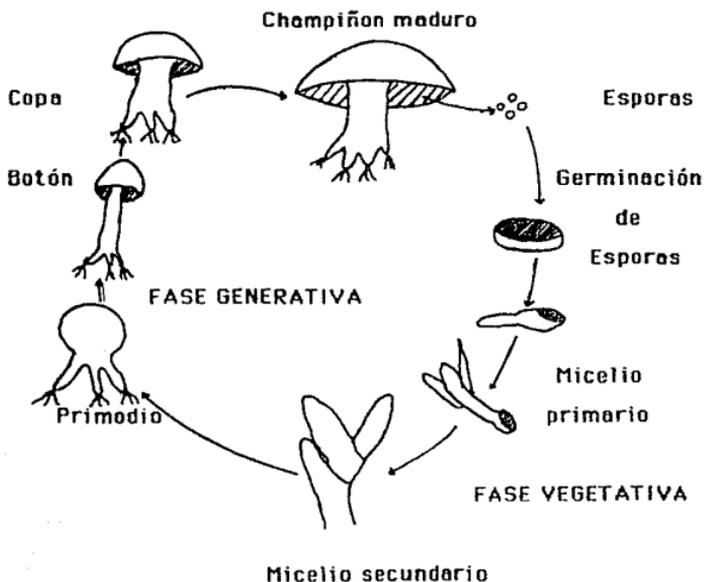


Fig. 14 Ciclo de vida del champiñón. (Quintero,R., 1985).

La formación de los cuerpos fructíferos depende del grado de desarrollo del micelio, de la composición del sustrato, de los cambios en el hábitat y de los cambios climatológicos, de allí que los cuerpos fructificantes aparecen en una época determinada del año (generalmente época de lluvias). Los factores que influyen directamente sobre la formación de los cuerpos fructíferos son la temperatura, humedad, luz y concentración de dióxido de carbono; estas condiciones pueden reproducirse de manera artificial para inducir la formación de cuerpos fructíferos.

La temperatura de formación de cuerpos fructíferos es menor que la temperatura de formación del micelio (tabla 11).

La humedad relativa del aire más adecuada para la fructificación de los hongos es de aproximadamente 80%, este porcentaje de humedad relativa se mantiene haciendo circular un flujo de aire de 1.25 m/s. La circulación de aire también es necesaria para evitar la concentración de CO<sub>2</sub>, ya que los macromicetos son organismos aerobios estrictos la concentración elevada de CO<sub>2</sub> provoca la formación tardía de los cuerpos fructíferos, además de que éstos sufren severas deformaciones.

También la deficiencia de luz causa deformaciones anatómicas de los cuerpos fructíferos. (Zadrazil, F., 1983).

tabla 11

Temperaturas óptimas para el crecimiento de especies cultivables de hongos comestibles diferenciadas para el crecimiento del micelio y la formación de cuerpos fructíferos.

ESPECIES	TEMPERATURA OPTIMA(°C)		LUZ*
	Micelio	FRUTO	
<i>Agaricus bisporus</i>	20-27	10-20	
<i>Agaricus bitorquis</i>	25-30	20-25	
<i>Agrocybe aegerita</i>	20-30	15-25	+
<i>Auricularia sp.</i>	20-35	20-30	+
<i>Coprinus comatus</i>	20-30	15-18	+
<i>Coprinus fimetarius</i>	20-40	20-40	+
<i>Flammulina velutipes</i>	18-25	3-8	+
<i>Lentinus edodes</i>	20-30	12-20	+
<i>Pholiota nameko</i>	24-26	5-15	+
<i>Pleurotus ostreatus</i>	20-30	5-18	+
<i>Pleurotus abalone</i>	20-30	15-25	+
<i>Pleurotus cornucopiae</i>	20-30	15-25	+
<i>P. flabellatus</i> , <i>P. sp Florida</i>	20-30	18-27	+
<i>P. sajor caju</i> , <i>P. sapidus</i>	20-30	18-27	+
<i>Stropharia rugosoannulata</i>	25-28	10-20	+
<i>Tremella fuciformis</i>	20-25	20-27	+
<i>Volvariella volvacea</i>	35-40	26-35	+

\* Requieren luz para la formación de los cuerpos fructíferos.

## TECNICAS DE CULTIVO

Existen basicamente dos métodos de cultivo: cultivo en sustrato líquido y cultivo en sustrato sólido.

El primero es el método común para el cultivo de bacterias, actinomicetos y hongos para la producción de metabolitos tales como aminoácidos, ácidos orgánicos, vitaminas, enzimas, antibióticos, etc.

Los hongos desarrollan de dos maneras en los procesos de fermentación en estado líquido, cuando es un proceso sin agitación el micelio crece extendido en la superficie del medio de cultivo, cuando es un proceso con agitación el micelio se comprime formando pequeñas esferas. Nunca se ha dado la formación de cuerpos fructificantes en un cultivo líquido. Los hongos superiores se cultivan en medios líquidos cuando se pretende realizar estudios sobre la fisiología de los hongos o para la producción de metabolitos como por ejemplo antibióticos.

Para la producción de hongos comestibles se utilizan métodos de cultivo en sustrato sólido

Las técnicas de cultivo de los macromicetos se clasifican en dos tipos: Métodos extensivos de cultivo, en los que se utilizan sustratos que colonizan los hongos de manera natural, como troncos y humus, y métodos intensivos de cultivo, en los que se utilizan sustratos pretratados y suplementados bajo condiciones ambientales estrictamente controladas.

### Técnicas extensivas de cultivo.

Generalmente los hongos primarios o de putrefacción blanca son los que se han cultivado por este método, las especies que han sido cultivadas por este método son: *Lentinus edodes*, *Pleurotus sp.*, *Pholiota nameko*, *Kuehneromyces mutabilis*, *Tremella fuciformis*, *Auricularia auricula-judae* y *Agrocybe aegerita* (Zodrazi, 1983).

Como ya se mencionó cada especie tiene requerimientos especiales como son el tipo de madera y las condiciones ambientales.

Este método de cultivo está supeditado a las condiciones ambientales locales por lo que se sugiere que cuando este sea utilizado la cepa a elegir sea una cepa local que haya sido identificada como comestible, ya que la cepa aislada de la región está adaptada a las condiciones nutricionales y ambientales del lugar.

La desventaja de este método es que los cuerpos fructíferos aparecen solamente una vez al año, cuando las condiciones ambientales son adecuadas.

El sustrato son trozos de madera de árboles que han sido cortados en invierno u otoño, ya que en primavera y verano son más susceptibles a ser colonizados por otros microorganismos degradadores de madera.

Los troncos permanecen en el bosque antes de ser cortados en trozos. Las dimensiones adecuadas de los trozos que serán utilizados para el cultivo de hongos son de 1 m de largo por 5 a 15 cm de diámetro cuando se van a cultivar *Lentinus edodes*, *Tremella fuciformis*, *Auricularia auricula-judae* y *Pholiota nameko*, y de 30 cm de largo y de 20 a 40 cm de diámetro para *Pleurotus sp* y *Kuehneromyces mutabilis*. A mayor diámetro de tronco menor altura.

A los trozos se les hacen perforaciones, de 2 cm de diámetro y de 8 a 10 cm de profundidad, en las perforaciones se introduce un cilindro de madera recubierto con micelio que ha sido propagado en agar en condiciones definidas de cultivo. También se puede usar aserrín mezclado con agar y malta en lugar de los cilindros de madera. El total de perforaciones por troza varía según el diámetro ésta, desde dos hasta 20, estas son recubiertas con cera o laca para evitar la evaporación y la contaminación, en algunos casos también se coloca una rodaja de 3 a 4 cm de espesor sobre la parte superior de la troza (fig 15). (Orensanz, G.J., 1979).

Otro método para inocular las trozas es esparcir aserrín con micelio sobre los trozos y cubrirlo con una capa delgada de madera. Después los troncos son apilados y protegidos de la desecación cubriéndolos con ramas, láminas de plástico y suelo durante el crecimiento del micelio, este método es el empleado para el cultivo de *Pleurotus sp* y *Kuehneromyces mutabilis*. Después se separan y se ponen sobre el suelo para la fructificación (Zadrazil, 1983).

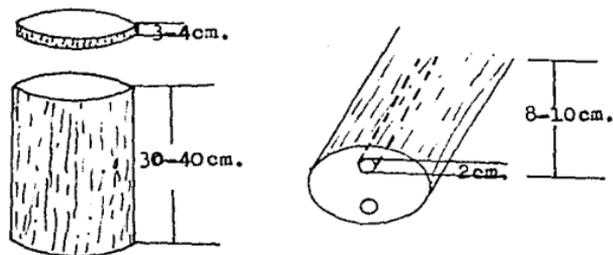


Fig. 15. Dimensiones para el aserrado de madera.

#### Técnicas intensivas de cultivo.

Como ya se menciona en este caso las condiciones de cultivo estan perfectamente controladas y el substrato adecuado y suplementado.

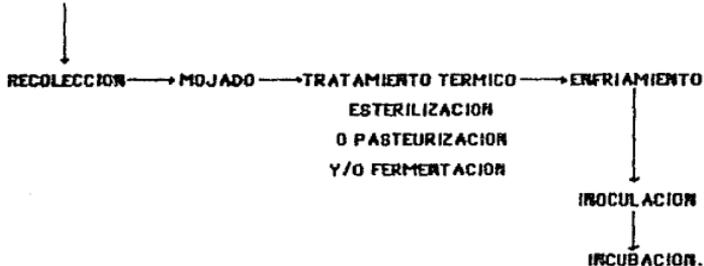
Con este método se han cultivado hongos primarios como *Auricularia sp.*, *Fiammulina velutipes*, *Phollete namako*, *Pleurotus sp.* y *Tremella fuciformis* utilizando como substratos paja, aserrín, rastrojos de maíz, etc. En algunos casos se añade carbonato de calcio y nitrógeno inorgánico como suplemento.

Para evitar el desarrollo de semillas, insectos parásitos, hongos contaminantes, etc. es necesario someter el sustrato a un tratamiento térmico, generalmente una pasteurización, también se utilizan fermentaciones. Las temperaturas que se alcanzan están entre 40 y 90 °C (Zedrazi, 1983).

La producción a gran escala con sustratos suplementados y esterilizados se ha logrado con especies como *Pleurotus sp.*, *Volvariella volvacea* y *Stropharia rugosaannulata*.

La figura 16 muestra esquemáticamente la preparación del sustrato para el cultivo intensivo de hongos comestibles en material lignocelulósico.

RESIDUOS VEGETALES.



CONTROL DEL PROCESO:

Control del Tamaño de Partícula.

Contenido de Agua.

Densidad.

Solubilización de los Nutrientes.

Control de Contaminantes.

Control de la Composición de la Atmósfera.

Control de la Temperatura y de la relación Dióxido de Carbono:Oxígeno.

Fig.16.Preparación del sustrato para el cultivo intensivo de hongos comestibles en lignocelulosa.

El hongo comestible que se ha cultivado más ampliamente por ambos métodos (extensivo e intensivo) es *Pleurotus ostreatus*.

Existen fundamentalmente dos técnicas que se han utilizado para el cultivo de *Pleurotus* estas son la tradicional o extensiva en la que se usan trozas de troncos de árboles. Para el cultivo de *Pleurotus ostreatus* se puede utilizar cualquier especie de madera, aunque se recomienda usar maderas blancas y blandas como la de pino, cuando se utilizan maderas suaves el tiempo de aparición de las setas es menor pero la descomposición de la madera es mayor y dura menos años, produce entre dos y tres años. Los troncos son perforados e inoculados con una pasta de aserrín con agar, malta y el micelio; se colocan algunos meses en una zanja cubierta y cuando ya se ha desarrollado el micelio se secan las trozas y se dejan a la intemperie en sitios húmedos, en los que no dé el sol directamente. La producción de setas dura pocos años, y se cosecha únicamente en el otoño dando rendimientos de 100 a 150 Kg. por metro cúbico de madera.

Otro método de cultivo es el industrial o cultivo intensivo en el que se utiliza paja, aserrín, rastrojo de maíz o de trigo, etc. Esta técnica es la más moderna y que se utiliza de manera industrial para el cultivo de hongos.

El local debe reunir las siguientes características. luz, ventilación y humedad necesarias, este tipo de locales se utilizan cuando se pretende obtener solamente una cosecha al año, ésta se hace generalmente en otoño. Este método no se aplica en países

tropicales a menos que se cultive una especie adaptada a estos climas como *Volvariella volvacea* y *Coprinus fimetarius*.

Si se desea obtener producción continua y abundante durante todo el año, se debe disponer de dos locales en los que se pueden controlar la temperatura, humedad, luz y ventilación. En uno de los locales se desarrolla el micelio y en el otro local se induce la fructificación de los hongos.

El crecimiento del micelio sobre el sustrato se lleva a cabo a una temperatura definida para cada especie (tabla 11) y debe existir ventilación (1 m<sup>3</sup> cúbico de aire por hora y por kilogramo de sustrato).

Para el desarrollo de las setas o cuerpos fructificantes las condiciones ambientales son más estrictas, la temperatura para la fructificación de *Pleurotus ostreatus* es entre 12 y 14 °C, y para otras especies es diferente (tabla 11); la humedad relativa debe ser entre 85 y 95%. Es necesario que exista una muy buena ventilación para evitar la concentración de CO<sub>2</sub>, esta tiene que ser por debajo de 0.06%, para mantener la concentración de CO<sub>2</sub> a este nivel se hace pasar una corriente de aire de 150 metros cúbicos por tonelada métrica de sustrato por hora. La iluminación también es un factor importante para la fructificación de las setas, es necesaria una intensidad entre 60 y 300 lux durante 12 horas diarias, esta se puede lograr con tubos fluorescentes.

Los locales no deben ser grandes porque es difícil controlar las condiciones ambientales en superficies mayores a 100 metros cuadrados.

El substrato debe ser de preferencia fresco y que no haya perdido la humedad, de cualquier modo se debe mojar ya sea sumergiendolo en depositos adecuados durante uno o dos dias, o regandolo sobre el suelo. La humedad del substrato tiene que ser entre 70 y 80%, que de manera práctica se comprueba apretando un puñado del substrato con la mano y este debe gotear, pero si no se oprime no debe gotear. Normalmente se añade una disolución de carbonato de calcio para que el pH sea cercano a 7.0.

Se aconseja una técnica de pasteurización del substrato antes de ser inoculado para eliminar insectos parásitos, hongos y bacterias contaminantes.

El micelio se mezcla con el substrato hasta quedar una mezcla homogénea. Normalmente se inocula el micelio en una proporción de 2 a 3% de micelio en peso húmedo.

En algunos países existe micelio comercial purificado y con características especiales, en México es necesario aislar y clasificar las cepas. Las esporas se germinan en placas de agar maltosa o cualquier medio de cultivo especial para hongos y después se hace crecer el micelio sobre granos de cereales estériles, por ejemplo granos de trigo.

Una vez sembrado el sustrato se empaque en recipientes que generalmente son de plástico, que tienen una capacidad de 15 a 30 Kg. El diámetro de los sacos debe ser inferior a 40 o 50 cm para evitar el sobrecalentamiento del sustrato, por el mismo motivo la densidad debe ser inferior a 0.36, esto se logra empackando el sustrato a mano sin presionarlo demasiado.

También se pueden usar envases de tela metálica para contener el medio de cultivo, durante la incubación del micelio éstos se cubren con plástico que tiene perforaciones (fig. 17).

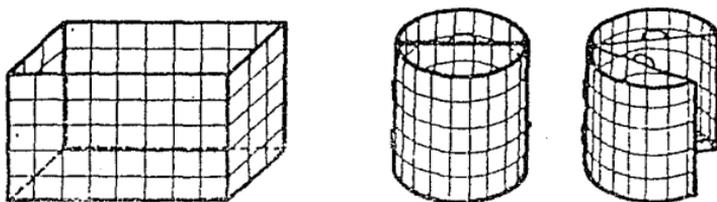


Fig. 17. Envases de tela metálica para contener el medio de cultivo, que durante la incubación, se cubren de plástico.(García Rollon,M.,1985).

Los requerimientos del envase son que el tamaño no debe ser mayor a 50 cm. para hacerlos manejables y la mayor superficie debe ser vertical ya que es en donde crecen las setas de calidad.

Una vez sembrado el substrato y empacado en bloques se colocan en el cuarto de incubación a la temperatura adecuada, después de 15 o 20 días el micelio invade todo el substrato que toma un color blanquecino.

Después del crecimiento del micelio se quita el plástico y se llevan al cuarto de cultivo, allí las condiciones deben ser las adecuadas para que se produzca la fructificación. Los paquetes se deben regar frecuentemente por asperción (gotas finas de agua), el riego en exceso puede favorecer el ataque de *pseudomonas sp.*

También se pueden utilizar empaques de plástico con perforaciones de 1 cm (espaciadas unos 15 cm), en los que se mantiene el substrato durante todo el cultivo, las setas salen en grupos por las perforaciones y es más fácil cosecharlas. En este sistema no es preciso regar ya que el plástico conserva la humedad, solo es necesario mantener la humedad del lugar, esto se logra regando el suelo y paredes.

La producción se da después de 2 a 3 semanas, aparecen abundantemente durante 3 a 8 días y dejan de salir 10 a 20 días, después salen otra vez durante 3 a 8 días y así sucesivamente.

La maduración de los cuerpos fructificantes es más rápida a mayor temperatura pero son de menor calidad. Al recolectarlas no deben arrancarse sino cortarse con un cuchillo. Después del tercer brote las setas que se producen no son de valor comercial.

En 7 o 9 semanas se producen entre 100 y 200 Kg. de *Pleurotus sp* por tonelada de sustrato preparado.

El proceso desde la preparación del local hasta la cosecha dura entre 2 y 4 meses. De 15 a 30 días de incubación y crecimiento del micelio, de 15 a 20 días en la zona de cultivo, de 45 a 60 días de cosecha (García Rollan, M., 1985). El proceso se resume en la tabla 12.

El *Pleurotus* ofrece múltiples ventajas en cuanto a su mantenimiento y conservación respecto a otras setas como *Boletus*, *Locarius deliciosus*, etc.

Puede ser refrigerado únicamente aunque pierde peso considerablemente.

Se puede conservar en el fondo de un frasco de vidrio de boca ancha, en el fondo se extiende una capa de sal de medio centímetro, sobre la sal se coloca una capa de setas y sobre esta otra capa de sal y así sucesivamente, la capa superior debe ser de sal. También se puede usar agua salada en un frasco previamente esterilizado a baño maría. También se pueden hacer conservas naturales.

La liofilización y el desecado natural son dos procesos adecuados para la conservación de las setas (J.V. Orensanz García, 1979)

Aunque la mayoría de los procesos industriales han utilizado paja como sustrato para el desarrollo de las setas el aserrín también es un buen candidato para la producción de hongos comestibles.

Además de proporcionar los nutrimentos necesarios para el desarrollo de los hongos primarios, tiene la cualidad de ser un material con gran capacidad de retención de humedad cuando este es fino y cuando es de partícula gruesa permite la movilidad del aire evitando la concentración de CO<sub>2</sub>. Una mezcla de ambos tipos de serrín proporcione una relación óptima de poros capilares y no capilares que dan un balance adecuado de aire y agua. Se sugiere una mezcla de serrín fino y grueso para el cultivo de hongos, la proporción en que cada uno tiene que estar no se ha estudiado aún (Jaimes, A.A., 1985).

Otra especie que se ha cultivado extensamente de manera comercial es *Agaricus bisporus* que es el hongo conocido comunmente como champiñón.

Los substratos utilizados son desechos de origen vegetal y estiércoles animales, estos se mezclan y humidifican y se someten a un proceso de degradación microbiológica, dicha degradación se lleva en pilas de composteo o cielo abierto seguido de una fermentación termofílica controlada. El resultado de esta fermentación es un substrato semidegradado parecido al humus.

La inoculación del substrato se lleva a cabo añadiendo granos de cereales, en los que se propaga el micelio de *Agaricus*. El desarrollo del micelio en el substrato requiere aproximadamente dos semanas, después de esto se recubre con una capa de suelo cobertura para que se inicie la fase generativa o de fructificación (fig. 18).

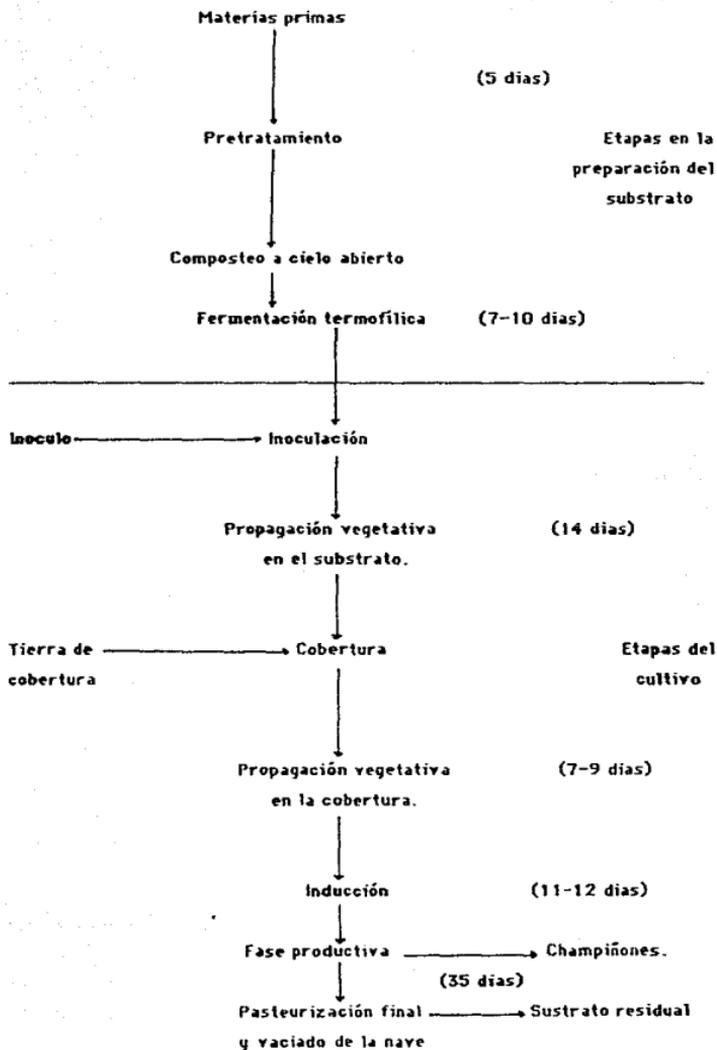


Fig.18.Procedimiento para el cultivo del champiñón  
(Quintero,R.,1985).

Durante el cultivo de las setas la cantidad de esporas que se generan es elevada, estas flotan en el ambiente y se forma una especie de niebla que puede afectar a personas alérgicas. Por esto se recomienda usar mascarillas, o taparse la boca y nariz cuando se trabaje en locales de cosecha.

Otras precauciones que deben tenerse para evitar la contaminación por otros hongos, enfermedades o insectos, son el control del aire por medio de un filtro; emplear algún insecticida y desinfectar rigurosamente los locales con vapores de formol cada vez que se vacíen (García Rollan, M., 1985).

Los hongos competitivos que invaden los cultivos en madera sobre todo en condiciones naturales (método extensivo) son: *Trichoderma* sp., *Hypoxylon coccineum*, *Poria vaporaria*, *Trametes sanguinea*, *Schizophyllum commune*, *Coralius versicolor*, *Cryptoderma citrinum*, *Merulius tremellosus* y algunos otros hongos (Ito, 1978, citado por Zadrazil, 1983).

Tabla 12

FASES	PROCESOS	TIEMPO	CULTIVO INDUSTRIAL	CULTIVO DOMESTICO
Preparación del sustrato.	Acondicionamiento del material base-		Paja de cereales de maíz, serrín, eot. Solsos o mezclados Picados.	Paja de cereales picada, etc
	Empapado:	De unas horas a días	Con agua	Con agua algo tem- plada
	Mezcla de aditivos		Yeso (10-40%), harina de plumas (5%), etc.	Un poco de yeso fino bien mezclado con el reslo
	Estreñización	18-24 horas 8 horas 18 horas	80°C. Al vapor 60°C 50°C En aerobiosis	Una hora en el agua a 80° C. Escurrir y lavar
Sistema del micelio	Mezclado		Al 2% con el sustrato (que estará a unos 25°C y con el 70% de humedad)	3% de sustrato hú- medo.
Incubación		15 - 20 días	En los sacos de plás- tico transparente o en recipientes cubier- tos de plástico. Tem- peratura del local: 18-22°C. Temperatu- ra del sustrato: cerca a los 25°C (vigilar para que no suba).	Igual que en el cultivo industrial.
Producción de setas	Control de ambiente.	Hasta 60 días (en tandas de 3-8 días, con descansos de 10-20 días).	Temperatura del local: 12 a 18° C según la cepa empleada Humedad del ambiente: 85 a 95% Mantener el sustrato húmedo regando finamente, o dejando el plástico sin quitar si tiene perforaciones grandes. Iluminación diurna: 60-200 lux. Ventilación: 150 m <sup>3</sup> de aire nuevo por tm y hora, reci- clando de 5 a 10 veces por hora su totalidad.	Temperatura del local: menor de 15° C Humedad: grande (rociar).  Iluminación diurna.  Buena ventilación.

Después de la soya y los chicharos, el champiñón es el vegetal con mayor porcentaje de proteínas.

El contenido proteico del champiñón cultivado es del orden de 36% del peso seco, y del 3 al 4% en estado fresco (Binding,G.J.,1972).

Los champiñones contienen 21 aminoácidos, entre los que se encuentran los aminoácidos esenciales. Los champiñones también contienen cantidades utilizables de grasas, son ricos en vitaminas del grupo B y contienen vitaminas C y D, además de que estan presentes cantidades considerables de minerales, contienen cobre, hierro,potasio, calcio, fósforo, sodio, manganeso y cinc.

El cultivo de champiñones tiene muchas ventajas: Son uno de los pocos productos que no producen desperdicios. Pueden comercializarse frescos, enlatados, deshidratados, liofilizados y congelados(la congelacion no es recomendable ya que los champiñones se pueden ver afectados).

Son un alimento completo, rico en proteínas , vitaminas, minerales, ácido fólico,contienen tripsina que es una enzima,que es en todos los aspectos,identica a la enzima presente en los jugos pancreaticos,producida en el aparato digestivo para ayudar a la digestión de los alimentos. No contienen féculas o almidón, por lo tanto son un buen alimento para los diabéticos y las personas obesas (Binding,G.J.,1972)

## DISCUSION, CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

La madera es un recurso natural renovable en largos períodos de tiempo, y cuando su uso es indiscriminado puede convertirse en un recurso no renovable.

La industria forestal en México ocupa un lugar muy importante dentro de la economía del país, ya que genera divisas y fuentes de trabajo.

Durante las diversas etapas de la transformación de la madera, se generan desechos que se estima que son del 66.5% del total de un árbol, esto significa una pérdida económica considerable.

Los desechos de madera pueden ser utilizados como recursos para la producción de diversos bienes.

Generalmente se aprovecha un pequeño porcentaje de estos desperdicios para la producción de aglomerados, sin embargo, la mayor parte de los desperdicios son quemados, se utilizan en los establos o simplemente se acumulan en las industrias en las que se generan.

Un problema importante que se presenta y por el cual no se ha dado el amplio uso de los residuos lignocelulósicos, entre los que esta incluida la madera, es la presencia de sustancias interferentes como la lignina y hemicelulosa, y la presencia de la celulosa cristalina.

La dificultad de crear tecnologías sencillas y económicamente accesibles ha sido una de las principales limitaciones para utilizar los residuos lignocelulósicos.

En éste trabajo se presentaron varias alternativas para el pretratamiento del material lignocelulósico con el fin de adecuarlo para el proceso posterior para la obtención de bienes.

Dentro de los pretratamientos físicos el más adecuado para la aplicación a gran escala sin que implique una inversión muy fuerte, es la pulverización o molido ya que no se requiere de equipo muy sofisticado como el equipo necesario para los pretratamientos con irradiaciones, ni tampoco fermentadores que resistan altas temperaturas y presiones como los requeridos para la explosión con vapor.

Con todos los pretratamientos químicos ya sean usando ácidos o alcalis se obtienen buenos rendimientos de azúcares.

Otro pretratamiento para remover las sustancias interferentes es aquel que utiliza enzimas específicas para degradar dichas sustancias o microorganismos que produzcan estas enzimas.

Lo mejor no es utilizar los pretratamientos por separado, sino hacer una combinación de dos o tres de ellos para tratar de obtener rendimientos del 100%, como cuando se utiliza peróxido de hidrógeno alcalino y celulasas de *Trichoderma reesei*.

Todos los pretratamientos se hacen con el fin de obtener productos por medio de tecnologías en las que se utilicen sistemas biológicos.

Por medio de microorganismos o enzimas se obtienen una gran variedad de productos como son azúcares, combustibles (etanol, isopropanol, butanol, etc.), proteína unicelular y el enriquecimiento proteico del material lignocelulósico.

Aunque todos los procesos son aplicables y tienen ventajas y desventajas, el cultivo de hongos comestibles que aquí se propone parece ser el más apropiado para la aplicación en México.

El utilizar una biotecnología que ocupe organismos como los hongos superiores, específicamente los hongos primarios o de la putrefacción blanca, tiene varias ventajas. En primer lugar, se utiliza un material de desecho difícilmente degradable, el material se puede utilizar prácticamente como se obtiene del procesamiento de la madera sin necesidad de un pretratamiento. El que no se requiera de un pretratamiento es de gran utilidad porque no es necesario el gasto de reactivos o enzimas específicas, que además de incrementar el costo del proceso se generan contaminantes y se requieren instalaciones y equipo especial, además de personal capacitado que lleve a cabo el proceso.

La pasteurización o fermentación que se sugiere para preparar el sustrato antes de ser inoculado para la producción de hongos comestibles no es un proceso complicado que requiera condiciones drásticas de reacción, por lo que se puede aplicar fácilmente.

Los hongos comestibles son antagonistas importantes que no permiten el desarrollo de otros microorganismos generalmente, sobre todo si se cuidan las condiciones específicas de cultivo para cada especie. Aún así es mejor tratar de llevar el cultivo en condiciones lo más asépticas posible.

El cultivo de setas no requiere de instalaciones muy sofisticadas ni de equipo especial por lo que se puede adaptar fácilmente a condiciones rurales, lo más conveniente sería edificar las instalaciones cerca del lugar en donde se generan los desechos lignocelulósicos.

Además de los hongos comestibles se obtiene una masa de sustrato degradado rico en celulosa, azúcares simples y proteína (aportada por el micelio) que puede ser utilizado como fertilizante o como alimento para ganado. Para cualquiera de los usos que se le de es conveniente esterilizar el sustrato para evitar que se reproduzcan microorganismos contaminantes que puedan ser patógenos para las plantas o los animales.

No existe el riesgo de que existan sustancias tóxicas para los animales o plantas que se generan durante la degradación de la lignina porque los micromicetos producen enzimas que eliminan la presencia de estas en el sustrato.

La producción de hongos comestibles trae consigo un desarrollo socioeconómico del país ya que genera nuevas fuentes de trabajo así como divisas para el país.

Los hongos comestibles son un producto con alto contenido proteínico que puede complementar o incluso substituir a la carne y al ser obtenidos a partir de materia prima barata su valor en el mercado no es elevado siendo accesible para la población en general.

Todos los estudios reportados han sido hechos en otros países, sería bueno reproducir los experimentos con la madera mexicana y los reactivos que se producen en México para verificar si los resultados son tan buenos como los resultados reportados en los diversos trabajos y para adaptar y optimizar las técnicas a las condiciones de México.

Las perspectivas de investigación para el futuro son muy amplias, entre las que se encuentran:

La deslignificación microbiológica, utilizando cepas de hongos que posean una sexualidad conocida y fácil de manejar, que no presenten problemas para su mantenimiento y propagación en el laboratorio.

Por medio de ingeniería genética se pueden obtener cepas de hongos que degraden selectivamente la lignina. Esta propiedad también podría ser utilizada en la industria de papel y celulosa como pretratamiento deslignificante, en lugar del pretratamiento actual en el que se utilizan reactivos químicos, que además de ser costosos generen contaminantes (licores sulfúricos).

La combinación de cultivos sólidos-sumergidos es un buen proyecto para la obtención de dos o más productos a la vez. En estos se lleva a cabo la degradación del material lignocelulósico y el enriquecimiento proteico del mismo, así como la producción de azúcares que sirven como alimento a otros microorganismos productores de enzimas, vitaminas, productos secundarios, etc.

Es necesario hacer cultivos de hongos comestibles a nivel laboratorio, seguido del escalamiento a nivel de planta piloto, así como los ensayos a nivel rural para determinar las cepas adecuadas para el cultivo y las condiciones óptimas para que la producción sea máxima.

Con el cultivo de hongos comestibles además de obtener los cuerpos fructíferos, se obtiene material con alto contenido de celulosa y enriquecido con proteínas que puede ser utilizado como alimento para ganado. Con esto muchas de las divisas destinadas a la importación de granos y alimentos balanceados para animales podrían desviarse a otros sectores. Una parte de las tierras que son cultivadas con granos para el consumo animal se ocuparían en la siembra de alimentos para el consumo humano. Todo esto implicaría la disminución del precio del alimento para ganado y por lo tanto puede disminuir el precio de la carne.

Sin embargo, aún hay que buscar otras biotecnologías para el aprovechamiento del material lignocelulósico.

Cualquier biotecnología que se quiera llevar a la práctica, requiere de un estudio de mercadotecnia para establecer el proceso más costoso, así como determinar los productos con mayor demanda en el mercado nacional e internacional. En base a este estudio se puede realizar un programa de actividades que cubra tanto el mercado ya existente como el potencial.

## APENDICE

**Nombre científico****Nombre vulgar**

<i>Quercus fulva</i>	Encino amarillo.
<i>Blepharidium mexicanum</i>	Popiste, Popistle.
<i>Metopium brownei</i>	Chechén negro.
<i>Bursera simaruba</i>	Chacá.
<i>Quercus acutifolia</i>	Encino rojo.
<i>Salix chilensis</i>	Sauco, Sauce.
<i>Quercus martinezii</i>	Encino.
<i>Brosimum alicastrum</i>	Ramón.
<i>Pinus patula</i>	Pino colorado.
<i>Styrex ramirezii</i>	Canelillo.
<i>Pinus douglasiana</i>	Pino lacio.
<i>Abies concolor</i>	Oyamel.
<i>Pseudotsuga oxyphyllaria</i>	Mamba.
<i>Pinus jeffreyi</i>	Pino ponderosa.
<i>Schinus molle</i>	Pirul.
<i>Lysiloma bahamensis</i>	Tzolám.
<i>Tilia mexicana</i>	Cirimo.
<i>Platymicium yucatanum</i>	Granadillo.
<i>Pinus cembroides</i>	Pino negro.
<i>Pinus ayacahuite</i> var. <i>veitchii</i>	Ayacahuite.
<i>Alnus arguta</i>	Aiite, Custlapatl
<i>Pinus herrerae</i>	Pino chino.
<i>Pouteria</i> aff. <i>campechiana</i>	Mameicillo.
<i>Inga vera</i> var. <i>spuria</i>	Cuajinicuil.

**Nombre científico**

*Quercus crassifolia*.  
*Zuelania guidonia*.  
*Vitex goumeri*.  
*Schizolobium parahybum*.  
*Libocedrus decurrens*.  
*Licaria campechiana*.  
*Acacia melanoxyton*.  
*Pinus lawsoni*.  
*Piscidia communis*.  
*Pinus oocarpæ* var. *latifolia*.  
*Inga hintoni*.  
*Abies vejari*.  
*Pinus pseudostrabus* var. *oaxacana*.  
*Terminalia amazonia*.  
*Pinus reflexa*.  
*Belotia mexicana*.  
*Prosopis laevigata*.  
*Pinus pseudostrabus*.  
*Vochysia hondurensis*.  
*Abies religiosa* var. *emarginata*.  
*Pinus oocarpæ* var. *ochoteranoi*.  
*Cupressus lindleyi*.  
*Myroxylon balsamum*

**Nombre vulgar**

Chicharrón.  
Trementino.  
Ya'axnic.  
Picho.  
Pino colorado.  
Pimientillo.  
Acacia.  
Hortiguillo.  
Jabín.  
Pino ponderosa.  
Cuajinicuil.  
Oyamel blanco.  
Pino.  
Conshán.  
Pino seguaco.  
Majagua.  
Mezquite.  
Pino Moctezuma  
Maca blanca.  
Pinabete palmeado.  
Pino.  
Cedro blanco.  
Nabé bálsamo.

**Nombre científico**

*Nectandra* aff. *tabascensis*.  
*Fouteria unilocularis*.  
*Robinsonella mirandae*.  
*Pinus oocarpa*.  
*Lonchocarpus castilloi*.  
*Ceiba pentandra*.  
*Cedrela odorata*.  
*Persea americana*.  
*Pinus michoacana* var. *cornuta*.  
*Pinus quadrifolia*.  
*Pinus duranguensis* var. *quinqüefoliata*.  
*Quercus resinosa*.  
*Chiranthodendron pentadactylon*.  
*Astronium graveolens*.  
*Clethra mexicana*.  
*Sickingia salvadorensis*.  
*Pinus chihuahuana*.  
*Ampelocera hottlei*.  
*Quercus sideroxyla*.  
*Celastrus* aff. *pringei*.  
*Podocarpus* aff. *reichei*.  
*Cordia dodecandra*.  
*Picea chihuahuana*.  
*Aspidosperma megalocarpon*.  
*Talauma mexicana*.

**Nombre vulgar**

Aguacatillo negro  
Zapotillo.  
Manzanillo.  
Pino alvellano.  
Machiche.  
Ceiba.  
Cedro rojo.  
Aguacatillo blanco  
Ocote escobeton  
Pino piñonero.  
Pino real.  
Encino amarillo.  
Manita.  
Gateado, Jobillo.  
Canelo, Cuchero.  
Chacahuanté.  
Pino saguaco.  
Juín.  
Encino rojo.  
Cuero de vaca.  
Sabino.  
Siricote.  
Pino beta.  
Pelmax.  
Yaloxochitl.

**Nombre científico**

*Alnus firmifolia.*  
*Pithecelobium flexicaule.*  
*Pinus ayacahuite.*  
*Carpinus caroliniana.*  
*Pinus ayacahuite* var. *brachyptera.*  
*Quercus oleoides.*  
*Pinus douglasiana.*  
*Talisia olivaeformis.*  
*Dialium guianense.*  
*Cupressus benthami.*  
*Cornus disciflora.*  
*Quercus candicans.*  
*Tabebuia rosae.*  
*Pithecelobium arboreum.*  
*Pouteria mammosa.*  
*Pinus lambertiana.*  
*Quercus scytophilla.*  
*Casuarina equisetifolia.*  
*Quercus rugosa.*  
*Populus simaroa.*  
*Pinus lumholtzii.*  
*Alseis yucatanensis.*  
*Pinus ponderosa.*  
*Vatairea lundellii.*

**Nombre vulgar**

Aille.  
Ebano.  
Pino real.  
More.  
Pino real.  
Encino.  
Pino blanco.  
Guaya.  
Guapeque.  
Sabino, Cedro.  
Azulillo.  
Encino ohuatl.  
Palo de rosa.  
Frijolillo.  
Mamey.  
Pino.  
Encino manzano.  
Casuerina.  
Roble.  
Alamo.  
Pino triste.  
Papellillo.  
Pino ponderosa.  
Tinco.

**Nombre científico****Nombre vulgar***Pinus couteri.*

Pino de piña larga.

*Acacia couteri.*

Perotilla.

*Quercus excelsa.*

Encino bornio.

*Pinus ayacahuite.*

Pino gretado.

*Colophyllum brasiliense.*

Baíí.

*Pinus rudis.*

Ocote.

*Swietenia macrophylla.*

Caoba.

*Pinus chihuahuana*

Pino negro.

*Licania arborea.*

Palo de casa

*Quararibea funebris.*

Madre cacao

*Taxodium mucronatum.*

Chuehuete.

*Lonchocarpus rugosus*

Catzín.

*Quercus obtusata*

Encino prieto

INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES FORESTALES,  
AGRICOLAS Y PECUARIAS (INIFAP).

## NOMENCLATURA DE MADERAS SUAVES COMERCIALES.

Nombre común	Nombre científico.
Cedros y Taxcates.	<i>Chamaecyparis.</i> <i>Juniperus.</i> <i>Libocedrus.</i> <i>Thuja</i>
Ciprés	<i>Taxodium.</i>
Falsos abetos.	<i>Pseudotsuga.</i>
Abetos.	<i>Abies.</i>
Pinabetes.	<i>Tsuga</i>
Alerces.	<i>Larix.</i>
Pinos.	<i>Pinus.</i>
Sequola.	<i>Sequola.</i>
Piceas.	<i>Picea.</i>
Tejos.	<i>Taxus.</i>

Fuente: Ricardo Rodríguez Muñoz. Apuntes para la carrera  
de aserraderos( sin fecha).

Tabla 13

TABLA DE EQUIVALENCIA DE MEDICION FORESTAL.

SISTEMA INGLES		SISTEMA METRICO DECIMAL	
MEDIDAS DE VOLUMEN	SIMBOLOGIA.	VALOR EN METROS CUBICOS	SIMBOLOGIA
1 pie tabla.	1 pt.	0.00236	M <sup>3</sup>
424 pies tabla rollo.	424 P.T.R.	1.00000	1 M <sup>3</sup> R
1 millar de pies tabla	1 M.P.T.	4.72000 en rollo	4.720M <sup>3</sup> R
1 millar de pies tabla.	1 M.P.T.	2.36000 aserrado	2.360M <sup>3</sup> As
35.39 pies cúbicos.	35.39 p <sup>3</sup>	1.00000	1 M <sup>3</sup>
1 pie cúbico.	1 p <sup>3</sup>	0.028320	M <sup>3</sup>
128 pies cúbicos.	128 p <sup>3</sup>	3.624	M <sup>3</sup>
1 cuerda de leña.	1 C de L.	3.624	M <sup>3</sup>

DEFINICIONES

Pie tabla: Es el volumen contenido en un paralelepipedo cuyas dimensiones son 12x12x1 pulgadas.

m<sup>3</sup> rollo: Es el volumen de madera no aserrada.

Sistema ingles: Es el sistema comercial, se utiliza únicamente para transacciones mercantiles ya que es predominante en el comercio exterior.

Sistema métrico decimal. Es el sistema oficial en México.

Cubicación: El objetivo de cubicar la madera es el de conocer el volumen de ésta y así calcular el precio comercial. Para cubicar la madera se utilizan diversas formulas, siendo la mas exacta la fórmula de Newton y la fórmula mas práctica es la de Huber.

$$\text{Fórmula de Smolian : } V = \frac{S_1 + S_2}{2} L$$

$$\text{Fórmula de Huber : } V = S_m L$$

$$\text{Fórmula de Newton : } V = \frac{S_1 + 4S_m + S_2}{6} L$$

V= volumen.

S<sub>1</sub>= Area sección mayor.

S<sub>2</sub>= Area sección menor.

S<sub>m</sub>= Area de la sección media.

L= Longitud.

De manera práctica se usan tablas establecidas basadas en la fórmula de Huber para calcular el volumen. Para utilizar las tablas los datos necesarios son: longitud y diámetro del tronco.

PRODUCCION FORESTAL MUNDIAL 1985

Tabla 14

PRODUCTO PAIS	MADEPA ENI	MADEPA ACERRADA	MADEPA ACERRADA	CHAPAS DE	TABLEROS CONTRA-	TABLEROS DE	TABLEROS
	ROLLO 1	CONIFERAS 1	NO CONIFERAS 1	MADERA 1	CHAPADOS 1	FIBRA 1	AGLOMERADOS 1
Total Mundial	3 165 019	344 974	1 17 026	4 711	43 868	15 699	44 511
Il y C. Américas	677 189	127 422	16 478	483	21 157	5 609	10 130
Canadá	171 305	52 519	1 348	* 474	1 958	792	2 380
Guay	3 344	35	46	—	* 2	48	73
México	21 317	1 840	150	* 2	270	65	425
C. U. A.	* 448 188	72 367	14 223	—	18 868	4 704	7 226
Los demás	32 735	661	711	7	59	—	26
SUL-AMERICA	302 161	9 658	13 195	364	1 184	888	* 1 242
Argentina	13 429	* 304	* 866	* 6	* 48	* 95	* 241
Brasil	* 225 905	* 7 475	* 8 377	* 234	* 902	* 727	* 660
Chile	15 493	1 871	320	* 9	* 20	40	114
Los demás	47 334	6	3 632	115	214	26	227
EUROPA	349 039	67 629	17 929	1 606	3 162	3 883	22 542
Alemania Occ.	30 650	8 321	1 602	398	336	269	5 830
Finlandia	41 782	7 231	60	* 16	* 592	168	571
Francia	38 999	* 5 667	* 3 485	* 58	* 476	* 195	* 1 760
Italia	9 948	1 166	1 388	293	360	250	1 350
España	* 13 696	1 635	* 461	* 137	* 129	* 330	* 1 210
Suecia	* 53 330	11 275	* 190	* 13	68	397	902
Los demás	161 125	52 324	10 743	689	1 201	2 274	10 919
URSS	* 355 700	84 600	12 100	* 476	* 2 385	3 313	* 6 860
África	482 931	1 829	5 673	543	583	164	465
Asia	985 281	50 199	19 614	1 190	15 229	1 694	2 458
Oceania	36 117	3 376	1 065	46	158	248	815

Volumen en miles de unidades:  
 1 Piezas m³  
 2 Toneladas  
 \* Estimación de FAO

FUENTE: CNIS con datos del Anuario de productos forestales de FAO, 1985. Biblioteca de la Dirección de Asuntos Internacionales de la SARN.

PRODUCCION FORESTAL MUNDIAL 1985

Tabla 14

PRODUCTO PAIS	PULPA DE MADERA 2	PAPEL PARA PERIODICO 2	PAPEL PARA ESCRITURA 2	OTROS PAPELES CARTON 2
Total Mundial	134 891	28 318	50 924	113 550
N y C América	70 120	14 174	19 465	44 717
Canadá	20 479	8 991	2 141	3 316
Cuba	—	—	59	73
México	578	260	783	1 660
E.U.A.	49 061	4 923	16 468	39 568
Los demás	2	—	14	100
SUDAMERICA	5 298	583	1 671	4 224
Argentina	574	203	161	457
Brasil	3 653	208	1 164	2 682
Chile	837	172	63	136
Los demás	234	—	283	949
EUROPA	33 562	7 706	18 116	30 564
Alemania Occ.	2 211	722	3 782	4 664
Finlandia	7 976	1 811	3 166	2 467
Francia	1 947	254	2 158	2 932
Italia	602	178	1 940	2 469
España	1 400	134	712	2 067
Suecia	9 123	1 594	1 364	4 044
Los demás	10 303	2 383	4 994	11 921
URSS	9 803 *	1 576 *	1 306 *	7 141 *
Africa	1 611	391	427	1 287
Asia	12 565	3 848	9 663	24 266
Oceania	1 932	670	276	1 351

Volumen en miles de unidades:

1 Metros cúbicos

2 Toneladas

\* Estimación de FAO

FUENTE: CNIS con datos del Anuario de productos Forestales de FAO, 1985. Biblioteca de la Dirección de Asuntos Internacionales de la SARH

**MICROORGANISMOS RELACIONADOS A LA BIOTECNOLOGIA DE  
MATERIALES LIGNOCELULOSICOS MENCIONADOS EN ESTE  
TRABAJO.**

*Aspergillus japonicum*  
*Aspergillus niger*  
*Aspergillus saitoi*  
*Aspergillus wentii*  
*Bacteroides cellulosolvens*  
*Beauveria brassiana*  
*Beauveria brangiartii*  
*Bretanomyces clausenii*  
*Candida acidothermophilum*  
*Candida brassicae*  
*Candida lusitanae*  
*Candida shehatae*  
*Cellulomonas sp.*  
*Chaetomium cellulolyticum*  
*Clostridium thermocellum*  
*Corticium versicolor*  
*Cryptococcus sp.*  
*Endomycopsis fibuliger*  
*Ganoderma applanatum*  
*Gliocladium deliquescens*  
*Heterrhizium anisopliae*

*Micromonospora melanospora.*

*Pachysolen tannophilus.*

*Paecilomyces farinosus.*

*Penicillium funiculosum.*

*Phanerachete chrysoasporium.*

*Pichia stipitis.*

*Polyporus versicolor.*

*Saccharomyces cerevisiae.*

*Saccharomyces ovarum.*

*Saccharomyces utilis.*

*Sclerotium rolfsii.*

*Sporotrichum cellulophilum.*

*Trichoderma reesei.*

*Trichoderma viride.*

*Zygomonosas mobilis.*

## GLOSARIO.

**Aerobio.**- Organismo que necesita del oxígeno del aire para subsistir.

**Aerobiosis** - Desarrollo de la actividad vital en presencia de aire.

**Anaerobio.**- Organismo que no necesita del oxígeno del aire para subsistir.

**Aserradero.**- Lugar en donde se asierra madera u otra cosa.

**-Aserrín.**- Conjunto de partículas que se desprenden al aserrar la madera.

**Bacteria.**- Nombre común de los organismos o seres unicelulares procarióticos (sin núcleo diferenciado ni organelos típicos).

**Candela** - Unidad fotométrica definida como la sesentava parte de la intensidad luminosa que sale por centímetro cuadrado, y en dirección normal, de un orificio practicado en la pared de una cavidad incandescente cuya temperatura es la de fusión del platino.

**Características organolépticas.**- Propiedades de los cuerpos que se pueden percibir por los sentidos.

**Chapa.**- Hoja o lámina de madera, metal u otra materia.

**Composteo.**- Acción de degradar a la materia orgánica por medio de microorganismos.

**Costeras.**- Cada una de las dos piezas más inmediatas a la corteza que salen al aserrar un tronco en el sentido de su longitud.

Desorille.- Acción de quitar las orillas.

Durmientes.- Madero colocado horizontalmente y sobre el cual se apoyan otros, horizontales o verticales.

Enzima.- Proteína que tiene acción catalizadora en las células vivas.

Escuadría.- Las dos dimensiones de la sección transversal de una pieza de madera que está o ha de ser labrada a escuadra.

Fermentación.- Proceso anaeróbico, por el cual se degrada la materia compleja a estructuras más sencillas, con desprendimiento de energía.

Hifa.- Elemento uni o pluricelular filamentosos que constituye el micelio, aparato vegetativo de los hongos.

Hongo.- Organismo vegetal heterótrofo, uni o pluricelular, por lo tanto micro o macroscópico cuya unidad anatómica es la hifa o la levadura, cuya reproducción es asexual o/y sexual.

Humificación.- Proceso de formación de humus

Humus.- Materia orgánica coloidal, de color oscuro y composición compleja, a base de los ácidos húmicos propiamente dichos y los ácidos fúlvicos. Procede en su mayor parte de la descomposición de restos vegetales.

Inhibición enzimática.- Las enzimas dejan de realizar su trabajo por causa de un inhibidor.

Inhibición por producto final.- El último producto de la reacción que catalizan las enzimas, actúa sobre estas para impedir que continúe con su actividad catalítica.

Limitación estérica.- Impedimento espacial para que los organismos crezcan y se desarrollen.

Lumen.- Unidad de flujo luminoso, equivalente al que envía una fuente luminosa puntiforme, por unidad de ángulo sólido en la dirección en la que la intensidad luminosa sea una candela. Si el manifiesto tiene una candela de intensidad, el flujo será de  $4\pi$  lumen.

Lux.- Unidad de intensidad de iluminación, equivalente a la de una superficie de un metro cuadrado sobre la que incide normalmente un flujo luminoso de un lumen.

Madera.- Porción leñosa y rígida, situada inmediatamente a la corteza, de los tallos que tienen crecimiento secundario en grosor, y en especial de los troncos.

Micelio.- Conjunto de hifas.

Mineralización.- La mineralización es un término convenientemente usado para designar la conversión de compuestos orgánicos de un elemento al estado inorgánico.

Rayos  $\beta$ .- Son electrones.

Rayos gamma.- Radiación electromagnética que emiten ciertos núcleos atómicos al pasar de un estado excitado a otro que está menos.

Sazonado.- Denominación que se le da al secado de la madera sin alterar la estructura y composición de la misma.

Es el proceso que se aplica al producto salido de la etapa primaria de manufactura, para posteriormente exhibirse con objetivos de venta y colocación en el mercado.

El secado puede ser artificial o al aire libre.

Superficie de contacto.- Area sobre la cual actua un agente físico, químico o biológico.

Taninos - Cada uno de los compuestos ternarios de C,H y O. Son abundantes en las plantas fanerógamas, en especial en los robles y encinos.

Tocones.- Parte del tronco de un árbol que queda unida a la raíz cuando lo cortan por el pie.

## BIBLIOGRAFIA.

Affolten Emil, «Zunehmende Zwangsnutzungen: Holzmarkt und Holzverwendung aus der Sicht der Waldwirtschaft», *Schweiz Z. Forstwes*, 136, pp.805-818, (1985).

Alexander Martin, «Introducción a la microbiología del suelo» segunda edición, AGT Editor S.A., pp. 127-219,(1980).

Alexander M.A., Chapman T.W., and Jeffries T.W., «Continuous Xylose Fermentation by *Candida Shehatae* in a Two-Stage Reactor», *Applied Biochemistry and Biotechnology*, Vol. XVII, (1988).

Ander Paul and Eriksson Karl E., «Lignin Degradation and Utilization by Microorganisms», *Progress in Industrial Microbiology*, Vol.XIV ,pp. 2-89, (1978).

Antonopolis R.A., Blanch H.W., Freitas R.P., Sciamanna A.F., and Wilke C.R.,«Production of Sugars from Wood Using High-Pressure Hydrogen Chloride», *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. XXV, pp 2757-2773, (1983).

Binding G.J., «El Champiñon, el Alimento Natural con más Alto Contenido Proteínico» Folleto de Divulgación, Madrid EDAF, pp. 5 1 - 8 1 , ( 1 9 7 2 ) .

Brownell H.H., and Saddler J.N., «Steam Pretreatment of Lignocellulosic Material for Enhanced Enzymatic Hydrolysis», *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. XXIX, pp. 228-235, (1987).

Brownell H.H., Yu E.K.C., and Saddler, « Steam-Explosion Pretreatment of Wood: Effect of Chip Size, Acid, Moisture Content and Pressure Drop», *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. XXVIII, pp. 792-801, (1986).

Bruchmann Ernst E., Kirsh Buchart, und Lasuster Manfred, «Zur Gewinnung Hochaktiver Cellulasepreparate und Optimierung der Enzymatischen Cellulosehydrolyse», *Chemiker-Zeitung*, Vol.99, pp. 157-158, (1975).

Callander I.J., Clark T.A., and McFarlane P.N., « Anaerobic Digestion of Wood Ethanol Stillage Using Upflow Anaerobic Sludge Blanket Reactor», *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. XXX , pp. 896-908, (1987).

Carr M.E., and Doane W.M., «Modification of Wheat Straw in a High-Shear Mixer», *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. XXVI, pp. 1252-1257,(1984).

Centro de Formación Forestal Número 1; Cd. Guzman, Jal., «Apuntes del curso de Medición Forestal»,pp. 12-25, (1980).

Chahal D.S., Moo-Young M. and Vlach D.,«Effect of Physical and Physicochemical Pretreatments of Wood for SCP Production with *Chaetomium cellulolyticum* », *Biotechnology and Bioengineering*, Vol XXIII, pp. 2417-2420,(1981).

Chen Nai Y., Miale Joseph, « Process for Preparing Organic Fuels and Chemicals from Biomass», Patente 4690903, *Biotechnology Advances*, (1988).

Camara Nacional de las Industrias Derivadas de la Silvicultura (CNIDS),«Memoria Económica 1987-1988».

Daubresse P., Ntibashirwa S.,Gheysen A., and Meyer J.A., «A Process for Protein Enrichment of Cassava by Solid Substrate Fermentation in Rural Conditions», *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. XXIX, pp. 962-968, (1987).

David C., and Formasier R., «Enzymatic Hydrolysis and Bacterian Hydrolysis-Fermentation of Eucalyptus Wood Pretreated with Sodium Hypochlorite», *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. XXVII, pp. 1591-1595, (1985).

Dekker Robert F.H., «Bioconversion of Hemicellulose: Aspects of Hemicelulose Production by *Trichoderma reesei* QM 9414 and Enzymic Saccharification of Hemicellulose», *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. XXV, pp. 1127-1146, (1983).

Dekker Robert F.H., « Kinetic, Inhibition, and Stability Properties of a Commercial  $\beta$ -D-Glucosidase (Cellobiase) Preparation from *Aspergillus niger* and its Suitability in the Hydrolysis of Lignocellulose», *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. XXVIII, pp. 1436-1442, (1986).

Enriquez A., «High Productivity and Good Nutritive Values of Cellulolytic Bacteria Grown on Sugarcane Bagasse», *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. XXV, pp 877-880, (1983).

Eriksson Karl-Erik, «Advances in Microbial Delignification», *Biotechnology Advances*, Vol.6 Número 1, (1988).

Farrell Roberta, «Use of RLDME 198 + 0,1-6 and other Ligninolytic Enzymes in the Treatment of Mechanical Pulps», Patente 4687745, *Biotechnology Advances*, (1988).

Farrel Roberta, «Use of RLDME 198 + 01 + 146 and other Ligninolytic Enzymes for the Decolorization of E1 Effluent », Patente 4692413, *Biotechnology Advances*, (1988).

Farrell Roberta, Kirk Thomas, «Novel Enzymes which Catalyze the Degradation and Modification of Lignin», Patente 4687741, *Biotechnology Advances*, (1988).

Fessenden R. J., Fessenden J. S., «Química Orgánica», Grupo Editorial Iberoamérica, Mex. D.F., 2a. Impresión, pp. 847-848 (1982).

Fisher Friedrich, «Die Holzchemie ein Intensivierungsfaktor zur Komplexen Verwertung des Holzes», *Chemische Technik*, 37, pp. 403-411, (1985).

García Rollan Mariano, «Cultivo Industrial de *Pleurotus Ostreatus* », Folleto Nº 11, Ministerio de Agricultura y Alimentación, Madrid España, pp. 2-16, (1982).

García Rollan Mariano, « Nuevas Técnicas para el Cultivo del *Pleurotus Ostreatus* », Folleto Nº 8, Ministerio de Agricultura y Alimentación, Madrid España, pp. 2-20, (1985).

Gharpuray M.M., Lee Yong-Hyun, and Fan L.T., «Structural Modification of Lignocellulosics by Pretreatments to Enhance Enzymatic Hydrolysis», *Biotechnology and Bioengineering*, Vol.XXV, pp. 157-172, (1983).

Ghose T.K., Pannir Selvam P. V.,a and Ghose P., «Catalytic Soent Delignification of Agricultural Residues: Organic Catalysis», *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. XXV, pp. 2577-2590, (1983).

Ghose T.K., Panda T.K., Panda T., and Bisaria V.S., «Effect of Culture Phasing and Mannanase on Production of Cellulase and Hemicellulase by Mixed Culture of *Trichoderma reesei* D 1-6 and *Aspergillus wentii* Pt 2804», *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. XXXVIII, pp. 1353-1361, (1985).

Gibbons William R., Westby Carl A., and Dobbs Thomas L., «A Continius, Farm-Scale, Solid-Phase Fermentation Process for Fuel Ethanol and Protein Feed Production from Fodder Beets», *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. XXVI, pp. 1098-1107, (1984).

Gilbert Ivan G., Tsao George T., »Interaction Between Solid Substrate and Cellulase Enzymes in Cellulase Hydrolysis», *Anual Reports on Fermentation Processes*, Vol. VI, (1983).

Giuliano Christine, and Khan A.W. «Conversion of Cellulose to Sugars by Resting Cells of a Mesophilic Anaerobe, *Bacteroides cellulosolvens* », *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. XXVII, pp. 980-983, (1985).

Gong, C.S., Ladisch M.R. y Tsao G.T. «Biosynthesis, Purification and Mode of Action of Cellulases of *Trichoderma reesei* », Hydrolysis of Cellulose: Mechanisms of Enzymatic and Acid Catalysis. *Adv. Chem. Serv.*, Vol. 181, pp. 261-287, (1979).

González Aldo, Gribergs Jains, und Griva Elvira, «Biologische Umwandlung von Holz in Rinderfutter "Palo podrido"», *Zentralbl. Mikrobiol.*, 141, pp. 181-186, (1986).

Gould J. Michael, «Alkaline Peroxide Delignification of Agricultural Residues to Enhance Enzymatic Saccharification» *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. XXVI, pp. 046-052, (1984).

Gould J. Michael, «Studies on the Mechanism of Alkaline Peroxide Delignification of Agricultural Residues», *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. XXVII, pp. 225-231, (1985).

Grant, G.A., and Anderson A.W., « Preliminary Cost Estimates for Comercial Fermentation of Straw as Animal Feed», *Biotechnology and Bioengineering*, Vol.XIX, pp. 1817-1830, (1977).

Grethlein H.E., Allen D.C., and Convers A.O., «A Comparative Study of the Enzymatic Hydrolysis of Acid-Pretreated White Pine and Mixed Hardwood», *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. XXVII, pp. 1498-1505, (1984).

Halliwell G., «Microbial  $\beta$ -Glucanases», *Progress in Industrial Microbiology*, Vol.15, pp. 46-63, (1979).

Hamilton T.J., Dale B.E., Ladisch M.R., and Tsao G.T., «Effect of Ferric Tartrate/Sodium Hidroxiide Solvent Pretreatment on Enzyme Hydrolysis of Cellulose in Corn Residue», *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. XXVI, pp.781-787, (1984).

Han Y.W., Timpa J., Ciegleg A., Courtney J., Curry W.F., and Lambremont E.N., «Gamma-Ray-Induced Degradation of Lignocellulosic Materials», *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. XXIII, pp. 2525-2535, (1981).

Holtzapple Mark T., Caram Hugo S., and Humphrey Arthur E., «A Comparison of Two Empirical Models for the Enzymatic Hydrolysis of Pretreated Poplar Wood», *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. XXVI, pp. 936-941, (1984).

Jaimes A.A., «Evaluación del Aserrín de Pino como sustrato Hidropónico», Tesis de la Universidad Nacional Autónoma de Chapingo, pp. 1-104, (1985).

Kadam Kiran L., and Drew Stephen W., «Study of Lignin Biotransformation by *Aspergillus fumigatus* and White-Rot Fungi Using <sup>14</sup>C-Labeled and Unlabeled Kraft Lignins», *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. XXVIII, pp. 394-404, (1986).

Kasarić N., Wieczorek A., Cosentino G.P., and Magee R.J., «Ethanol from Cellulosic Materials», *Biotechnology*, Vol. III, pp. 296-315, Edited by H.J. Rehm and G. Reed, (1983).

Khan A.W., Labrie J.P., McKeown J., «Effect of Electron-Beam Irradiation Pretreatment on the Enzymatic Hydrolysis of Softwood», *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. XXVIII, pp. 1449-1453, (1986).

Kim, Hoe Jung, Hosobuchi Masahiko, Kishimoto Michimasa, Seki Tatsuji, Yoshida Toshiomi, and Taguchi Hisaharu, «Cellulase Production by a Solid State Culture System», *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. XXVII, pp. 1445-1450, (1985).

Laukevics J.J., Apsite A.F., Viesturs U.E., and Tengardy R.P., «Solid Substrate Fermentation of Wheat Straw to Fungal Protein», *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. XXVI, pp. 1465-1474, (1984).

Laukevics J.J., Apsite A.F., Viesturs U.E., and Tengerdy R.P., «Steric Hindrance of Growth of Filamentous Fungi in Solid Substrate Fermentation of Wheat Straw», *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. XXVII, pp. 1687-1691, (1985).

Lawford, Hugh G., « A New Approach to Improving the Performance of *Zymomonas* in the Continuous Ethanol Fermentations», *Applied Biochemistry and Biotechnology*, Vol. 17, (1988).

Lee Y.Y. «Selective Hydrolysis of Hardwood Hemicellulose by Acids», *Biotechnology and Bioengineering Symp.* Vol. 8, pp. 75-78, (1978).

Lehninger, A. «Bioquímica» 2a. ed. Ediciones Omega S.A. pp. 273-274, (1982).

Lin K.W., Ladisch M.R., Voloch M., Patterson J.A., and Noller C.H., «Effect of Pretreatments and Fermentation on Pore Size in Cellulosic Materials», *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. XXVII, pp. 1472-1433, (1985).

Lynd L.R. and Grethlein H.E., «Hydrolysis of Dilute Acid Pretreated Mixed Hard Woods and Purified Microcrystalline Cellulose by Cel-Free Broth from *Clostridium thermocellum* », *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. XXIX, pp. 92-100, (1987).

Mandels Mary, «Cellulases», *Annual Reports on Fermentation Processes*, Vol. 5, (1982).

Milstein O., Vered Y., Sharma A., Gressel J., and Flowers H.M., «Heat and Microbial Treatments for Nutritional Upgrading of Wheat Straw», *Biotechnology and Bioengineering* , Vol. XXVIII, pp. 381-186, (1986).

Mishra C., Rau M., Seeta R., Srinivasan M.C., and Deshpande V., «Hydrolysis of Lignocellulose by *Penicillium funiculosum* Cellulase», *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. XXXVI, pp. 370-373, (1984).

Mohagheghi Ali, Grohmann Karel, and Wyman Charles E., «Production of Cellulase on Mixtures and Xylose and Cellulose», *Applied Biochemistry and Biotechnology*, Vol. 17, (1988).

Neely W.C., «Factors Affecting the Pretreatment of Biomass with Gaseous Ozone», *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. XXVI, pp. 059-065, (1984).

Ooshima Hiroshi, Ishitani Vohsuke, and Harano Yoshio, «Simultaneous Saccharification and Fermentation of Cellulose: Effect of Ethanol on Enzymatic Saccharification of Cellulose», *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. XXVII, pp. 389-397, (1985).

Orensanz García Juan U., Navarro Virgos Cirilo, «Cultivo de *Pleurotus ostreatus* sobre Madera», Folleto Número 3, Ministerio de Agricultura, Madrid, pp. 2-20, (1979).

Parekh S.R., Parekh R.S., and Wayman M., «Fermentation of Xylose and Cellobiose by *Pichia stipitis* and *Brettanomyces clausenii* », *Biochemistry and Biotechnology*, Vol. 18, (1988).

Peitersen Nicolai, «Cellulase and Protein Production from Mixed Cultures of *Trichoderma viride* and Yeast», *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. XVII, pp. 1291-1299, (1975).

Playne M.J., «Increased Digestibility of Bagasse by Pretreatment with Alkalis and Steam Explosion», *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. XXVI, pp. 426-433, (1984).

Puri V.P., and Mamers H., «Explosive Pretreatment of Lignocellulosic Residues with High-Pressure Carbon Dioxide for the Production of Fermentation Substrates», *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. XXV, pp. 3149-3161, (1983).

Quintero Ramírez Rodolfo. Compilador, De la Torre L. M. «Aprovechamiento de Esquilmos Agrícolas y Residuos Agroindustriales», *Prospectiva de la Biotecnología en México*, pp. 219-234, CONACYT, (1985).

Quintero Ramírez Rodolfo. Compilador, Leal Lara Hermilio, «La Utilización Microbiológica de Desperdicios Lignocelulósicos. Potencialidades y Perspectivas», *Prospectiva de la Biotecnología en México*, pp. 93-114, CONACYT, (1985).

Quintero Ramírez Rodolfo. Compilador, Leal Lara Hermilio, «El Cultivo del Champiñón y otros Macromycetos Comestibles», *Prospectiva de la Biotecnología en México*, pp. 235-258, CONACYT, (1985).

Quintero Ramírez Rodolfo. Compilador, Sánchez R. Sergio A., «El Desarrollo Biotecnológico en México», Prospectiva de la Biotecnología en México, pp.131-148, CONACYT, (1985).

Ray R.M., and Desai J.D., «Effect of Melanin on Enzymatic Hydrolysis of Cellulosic Waste», *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. XXVI, pp. 699-701, (1984).

Rodríguez Muñoz Ricardo, «Apuntes para la Cátedra de Acerraderos del séptimo año de la Especialidad de Bosques, en la Escuela Nacional de Agricultura de Chapingo, México», (sin fecha).

Ryu S.K., and Lee J.M., «Bioconversion of Waste Cellulose by Using an Attrition Bioreactor», *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. XXV, pp. 53-65, (1983).

Saddler J.N., Brownell H.H., Clermont L.P., and Levitin N., «Enzymatic Hydrolysis of Cellulose and Various Pretreated Wood Fractions», *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. XXXIV, pp. 1389-1402, (1982).

San Martín R., Blanch H.W., Wilke C.R., and Sciamanna A.F., «Production of Cellulase Enzymes and Hydrolysis of Steam-Exploded Wood», *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. XXVIII, pp. 564-569, (1986).

Sánchez Enrique G., Bernald S. Ma. Gpe., «Utilización del Follaje de Pino *Pinus ponderosa* en la Alimentación de Vaquillas en crecimiento», *Técnica Pecuaria*, Mex., 34, pp. 91-94, (1978).

Sato K., Nakamura K., and Sato S., «Solid-State Ethanol Fermentation by Means of Inert Gas Circulation», *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. XXVII, pp. 1312-1219, (1985).

Sharma A., Milstein O., Vered Y., Gressel J., and Flowers H.M., «Effects of Aromatic Compounds on Hemicellulose-Degrading Enzymes in *Aspergillus japonicus*», *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. XXVII, pp. 1095-1101, (1985).

Spindleer Diane D., Wyman Charles E., Mohagheghi Ali, and Grohmann Karel, «Thermotolerant Yeast for Simultaneous Saccharification of Cellulose to Ethanol», *Applied Biochemistry and Biotechnology*, Vol. 17, (1988).

Stryer L., «Bioquímica», 1a. ed., Editorial Reverté S.A., pp. 397, (1979).

Stutzenbergen Fred J., Bowden Michael W., «Mundial Health Hazard in Cellulose Bioconversion by Thermophilic Actinomycetes», *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. XXVI, pp. 2443-2447, (1987).

Torget R., Itmmel M., Wright J.D., and Grohmann K., «Initial Design of Dilute Sulfuric Acid Pretreatment Process for Aspen Wood Chips», *Applied Biochemistry and Biotechnology*, Vol. 17, (1988).

Trip Adhi, Korus Roger A., Pometto Anthony L., and Crawford Don L., «Lignin Degradation and Production of Microbially Modified Lignin Polymers by *Streptomyces viridosporus* in slurry Reactors», *Applied Biochemistry and Biotechnology* , Vol. 18, (1988).

Van Zyl Carina, Prior Bernard A., and Du Presz James C., «Production of Ethanol from Sugar Cane Bagasse Hemicellulose Hydrolyzate by *Pichia stipitis* », *Applied Biochemistry and Biotechnology* , Vol. 18, (1988).

Van Zyl Willem H., «A Study Of the Cellulases Produced by Three Mesophilic Actinomycetes Grown on Bagasse as Substrate», *Biotechnology and Bioengineering* , Vol. XXVII, pp. 1367-1373, (1985).

Viesturs, U.E., Strikauska S.U., Leite M.P., Berzins A.J., and Tengerdy Robert P., «Combined Submerged and Solid Substrate Fermentation for the Bioconversion of Lignocellulose», *Biotechnology and Bioengineering* , Vol. XXX, pp.282-288, (1987).

Wayman, Morris and Parekh, Sarad R., «SO<sub>2</sub> Prehydrolysis for High Yield Ethanol Production from Biomass», *Applied Biochemistry and Biotechnology*, Vol. 17, (1988).

Wright John D., Wyman Charles E., and Grohmann Karel, «Simultaneous Saccharification and Fermentation of Lignocellulose, Process Evaluation», *Applied Biochemistry and Biotechnology*, Vol. 18, (1988).

Zadrazil F., «Die Zersetzung des Stroh-Zellulose Ligninkomplexes mit *Pleurotus florida* und dessen Nutzung», *Z.Pflanzennennern Boden K.* Vol. 3, pp. 2263-78, (1975).

Zadrazil F., Grabbe K., «Edible Mushrooms», *Biotechnology*, Vol. 3, pp.146-184, Edited by H.J. Rehm and G. Reed, (1983).

Zetelaki-Horváth Kornélia, «Protein Enrichment of Lignocellulosic Agricultural Wastes by Mushrooms», *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. XXVI, pp. 389, (1984).