

# POTENCIALIDADES DEL EMPLEO DE RESIDUOS AGROINDUSTRIALES PARA LA PRODUCCIÓN DE ENZIMAS

Ing. Jadis Z. Ramos León<sup>1</sup>, MSc. Madyú Matos Trujillo<sup>1</sup>, Dr C. Aymara Valdiva  
Ávila<sup>1</sup>, Ing. Félix Darián Llanes Martínez<sup>2</sup>

1. *Universidad de Matanzas, Vía Blanca Km.3, Matanzas, Cuba.  
jadis.ramos@umcc.cu*

2. *Empresa Integral Agropecuaria- Calle B esq. III Playa, Matanzas.*

## Resumen

La conversión de la biomasa lignocelulósica en compuestos de valor agregado es una estrategia sustentable para el desarrollo de muchas industrias. La producción de enzimas a partir de estos compuestos se destaca su aplicación en la alimentación animal debido a las ventajas que ofrece esta práctica. El uso de enzimas permite el incremento del valor de los componentes de la dieta, una mejor digestibilidad de los alimentos y la asimilación de los mismos. El objetivo de la presente monografía es abordar los principales métodos de obtención de enzimas a partir de residuos agroindustriales y los beneficios que aporta su uso en la alimentación animal.

*Palabras claves: xilanasas, fermentación en estado sólido, alimentación animal*

## Desarrollo

El incremento del precio de los alimentos y la distribución desigual afecta la seguridad alimentaria en muchos países. Para disminuir este impacto, es necesario aprovechar todas las oportunidades que brinda el escenario contemporáneo junto con la explotación racional y adecuada de los recursos locales o regionales, bajo un enfoque sistémico (Gonzales, 2015). El incremento en las producciones agrícolas y el desarrollo agroindustrial genera grandes volúmenes de residuos que se acumulan anualmente con afectaciones al medio ambiente, en este sentido, se destaca la agroindustria azucarera (Rodríguez *et al.*, 2016). Muchos de ellos se han utilizados en su forma original, o procesados para la alimentación animal.

En las últimas décadas la utilización de enzimas exógenas en piensos y raciones de animales ha aumentado de forma relevante. Estas moléculas se utilizan para incrementar la disponibilidad de los nutrientes que no pueden ser digeridos por el animal (Knob *et al.*, 2014). De esta forma, se mejora la disponibilidad energética a partir del empleo de enzimas que degradan los polisacáridos y producen azúcares más simples, los cuales son más fácilmente asimilables por los animales. Esto supone un incremento del valor nutritivo de las materias primas utilizadas y un aumento en el rendimiento de la productividad animal a través de una mejora del índice de conversión (Souza *et al.*, 2014).

Las enzimas son proteínas con actividad catalítica que poseen una extraordinaria eficiencia y especificidad, cuya función es catalizar las reacciones químicas que ocurren en las células vivas (Garg, 2016). Están presentes en todos los organismos, participan en los procesos naturales y se sintetizan tanto en los organismos unicelulares, las plantas, los insectos, los animales y el hombre (González, 2004). En la actualidad el desarrollo de investigaciones en temáticas relacionadas con la tecnología enzimática propicia que el uso de estas proteínas se haya extendido a diversos campos como la biomedicina, las industrias que producen papel, etanol y detergentes, así como en la producción de alimentos (Purich, 2010).

El proceso de fermentación en estado sólido (FES) se ha aplicado en la obtención de enzimas, y otras sustancias de interés para la industria de los alimentos. El empleo de residuos de la agroindustria como sustratos para la obtención de enzimas se considera una alternativa que permite revalorizar estos subproductos (Martin, 2009). La degradación de los componentes de las paredes vegetales es un proceso complejo que involucra la acción sinérgica de un gran número de enzimas extracelulares. Muchas de estas enzimas reciben

una atención especial debido a su uso potencial en diferentes procesos industriales (Chakdar, 2016).

### **Componentes de la pared celular vegetal**

La pared celular de las células vegetales se localiza en la zona exterior de la célula, en contacto íntimo con la membrana plasmática. Proporciona rigidez, soporte estructural y mecánico a la célula, determinando la morfología y el crecimiento celular y por tanto, en última instancia, la arquitectura de la planta (fig.1). Además, la pared celular previene la excesiva expansión de la célula debida a la entrada y circulación de agua, actúa de barrera frente a patógenos y es el compartimento celular que media todas las relaciones de la célula vegetal con el entorno. (Gallardo, 2007).

Esta estructura está compuesta principalmente por celulosa, hemicelulosas, sustancias pécticas y glicoproteínas, y en ocasiones se encuentra reforzada por polímeros aromáticos como lignina. Estos polímeros están entremezclados y unidos químicamente entre sí mediante enlaces covalentes y no covalentes, formando una estructura denominada lignocelulosa, según Jordan *et al*, (2012). La proporción de cada uno de estos componentes varía según el tipo celular y la especie vegetal, donde la celulosa representa entre el 35 y 50% del peso seco de los residuos vegetales, mientras que la lignina y la hemicelulosa representan del 20 al 35% y del 5 al 30% respectivamente (Valenzuela, 2012).

La celulosa es el componente mayoritario de la biomasa vegetal, y se considera el biopolímero más abundante de la Tierra. Se encuentra formando parte de la denominada fase microfibrilar de la pared vegetal (altamente cristalina), la cual, además de celulosa, puede contener microfibrillas de mananos o de xilanos  $\beta$  (1 $\rightarrow$ 3). (Gallardo, 2007). Este polímero cumple un rol estructural en las plantas debido a que forma parte de los tejidos de sostén. La pared de una célula vegetal joven contiene aproximadamente un 40% de celulosa; la madera un 50%, mientras que el ejemplo más puro de celulosa es el algodón con un porcentaje mayor al 90% (Valenzuela, 2012).

Las hemicelulosas son polisacáridos heterogéneos, neutros, que presentan una cadena principal con ramificaciones cortas. Suponen habitualmente el 20 - 35% del peso seco de la pared celular vegetal, donde, conjuntamente con la pectina, la lignina y las proteínas, constituyen la denominada matriz amorfa de la pared celular, dentro de la cual se encuentra embebida la fase microfibrilar cristalina. La hemicelulosa más abundante en los cereales y las maderas duras (angiospermas) es el xilano, mientras que en las maderas blandas

(gimnospermas) es el galactoglucomanano. Otras hemicelulosas frecuentes en vegetales son el xiloglucano, el galactomanano, el glucomanano, el manano puro y la calosa. (Gallardo, 2007).

Los xilanos son el tipo más abundante entre las hemicelulosas. Su cadena principal está compuesta por unidades de  $\beta$ -1,4 xilopiranosas, generalmente mono sustituidas con residuos de arabinosa o ácido glucurónico. También se pueden encontrar sustituciones de galactosa o manosa en menor proporción (Alvira, 2011).

La degradación de los componentes de las paredes vegetales es un proceso complejo que involucra la acción sinérgica de un gran número de enzimas extracelulares. Muchas de estas enzimas han recibido una atención especial debido a su uso potencial en diferentes procesos industriales.

### **Métodos para la producción de enzimas**

Existen dos procesos fermentativos que son utilizados para la producción de enzimas: la fermentación sumergida (FSm) y la fermentación en estado sólido (FES). Los procesos de fermentación sumergida son conocidos, estudiados y aplicados. No obstante, el costo de producción de este método es muy elevado y el proceso se torna, muchas veces, económicamente no viable (Brandao, 2003).

La fermentación en estado sólido (FES) se define como el proceso que involucra una matriz sólida, llamada sustrato y se lleva a cabo en ausencia o casi sin la presencia de agua libre, sin embargo, el sustrato debe poseer suficiente humedad para soportar el crecimiento y metabolismo del microorganismo. El sustrato puede actuar tanto como fuente de nutriente o como un soporte inerte, el cual tiene una solución nutritiva absorbida dentro de la matriz. (Abraham, 2014).

Los principales componentes de la fermentación en estado sólido son el microorganismo y el sustrato y medio sobre el cual se va a desarrollar el proceso fermentativo. Entre los microorganismos empleados se destacan los hongos filamentosos (50%), seguidos de las levaduras (30%), los actinomicetos (15%) y las bacterias (5%) (Díaz, 2009).

La selección del tipo de microorganismo que se emplea en estos procesos, está determinada principalmente, por la actividad de agua del medio (Brandao, 2003). La selección del soporte adecuado para el cultivo del microorganismo en estado sólido es esencial ya que de ello depende el éxito del proceso (Mussatto et al., 2012).

Los factores más importantes a tener en cuenta a la hora de seleccionar un soporte son el tamaño de partícula, la porosidad, la composición química, la disponibilidad del mismo así como su precio (Díaz, 2009). Los residuos agroindustriales son generalmente los mejores sustratos debido a que presentan una estructura básica macromolecular compuesta por celulosa, almidón, pectina, lignocelulosa, etc., potencialmente asimilable por una amplia gama de microorganismos quimioheterótrofos (Gaur y Tiwari 2015). El uso de la FES mejora los rendimientos, facilita la separación de los productos obtenidos y disminuye de los costos de producción al utilizar materiales de desechos agroindustriales para la producción de las proteínas deseadas y a la vez se resuelven problemas de deposición de residuos sólidos (Zhang *et al*, 2012; Fadel *et al*, 2014).

Entre los residuos agroindustriales empleados como sustratos para la FES se destacan los residuos de las cosechas de frutas y verduras, cortezas de árboles, cáscara de frutos secos, salvado de trigo, cáscara de café, bagazo de caña de azúcar y otros. Por otra parte, la FES permite mejorar la calidad nutricional de alimentos como legumbres, cereales (Díaz, 2009).

Una de las características más importante de la caña de azúcar, que la distingue del resto de las plantas forrajeras, es su capacidad de producción de biomasa por unidad de superficie. El bagazo y los residuos de la cosecha de la caña de azúcar contienen alrededor de un 70% de carbohidratos (Banerjee y Pandey, 2002). Estas razones podrían justificar la producción de enzimas por los microorganismos durante la FES (Zhang *et al*, 2018).

El afrecho de trigo es otro de los residuos más utilizados para la producción de diferentes enzimas. Varios autores han informado elevados valores de actividad en la producción de enzimas xilanolíticas durante la FES (Dholpuria y Bajaj, 2014; Hooi Ling Ho y Ke li Heng, 2015; Sanghi *et al*, 2008). Este subproducto se caracteriza por poseer aproximadamente 54% de carbohidratos (pentosas y hexosas), 14 % de proteínas, minerales, amino ácidos y vitaminas (El-Sharnouby *et al*, 2012), lo cual garantiza nutrientes necesarios para el crecimiento microbiano.

La selección del microorganismo para la obtención de enzimas en niveles adecuados, es el primer paso para la producción comercial de estas biomoléculas. Esta selección es el resultado de la investigación de la capacidad de diferentes especies para producir la proteína deseada (Rodríguez, 1999).

Entre los microrganismos productores de enzimas se destacan hongos, bacterias, levaduras entre otros, los cuales se caracterizan por la baja demanda de nutrientes durante su crecimiento y sus posibilidades de desarrollarse en una amplia variedad de ambientes. Estos

microorganismos poseen la capacidad de producir enzimas estables bajo condiciones extremas, lo cual favorece su aplicación en procesos de bioconversión, al incrementar las tasas de actividad enzimática, fermentación y recuperación de productos (Maki *et al.*, 2009).

Los hongos filamentosos se utilizan ampliamente para la producción de enzimas, debido a su capacidad de secretar estas proteínas al medio de cultivo. Los géneros *Aspergillus* y *Trichoderma* se destacan en este sentido. (Zweers *et al.*, 2008; Fadel *et al.*, 2014).

Dentro de las bacterias más utilizadas en la obtención de estas biomoléculas se incluye el género *Bacillus*, (Zweers *et al.*, 2008, Fujiwara *et al.*, 2009). Se caracterizan por la formación de esporas resistentes a elevadas temperaturas, la radiación, desecación y la degradación enzimática. Las especies de *Bacillus* poseen una excelente capacidad fermentadora y ofrece la posibilidad de exportar enzimas al medio de cultivo, considerándose una “fabrica celular” de gran utilidad (Meima *et al.*, 2004). Entre las enzimas producidas por este género se destacan las proteasas, celulasas, amilasas, xilanasas, entre otras (Schallmeyer *et al.*, 2004; Westers *et al.*, 2004 y Sugumaran *et al.*, 2013). Otra importante característica de este género es su uso como probiótico en la producción animal (Piad *et al.*, 2006; Pérez *et al.*, 2007).

### **Aplicación de enzimas en la alimentación animal.**

El 65% de los piensos elaborados a base de cereales viscosos, destinados a aves contienen enzimas carbohidrasas. Entre los modos de acción de las enzimas propuestos se destaca I) la hidrólisis de enlaces químicos específicos en los alimentos que no son degradados lo suficiente por las enzimas endógenas de los animales; II) la eliminación del efecto de encapsulación de nutrientes de los polisacáridos de la pared celular y por tanto aumenta la asimilación de almidón, aminoácidos y minerales; III) hidroliza factores antinutricionales presente en muchos alimentos; IV) solubiliza los polisacáridos no amiláceos insolubles para una mejor fermentación intestinal y mejorar la utilización de energía y V) complementación de enzimas (por ejemplo amilasas, proteasas, lipasas) en animales jóvenes debido a la inadecuada producción de enzimas endógenas de su sistema digestivo (Kiarie *et al.*, 2017).

Las xilanasas son enzimas con potencialidades para su aplicación industrial. Su uso comenzó en 1930 en el sector alimentario, en la elaboración de quesos y de zumo de frutas. En los años 60 alcanzó su mayor desarrollo en la producción de detergentes y productos textiles, seguido de su empleo en la industria de almidones. Posteriormente, en los años 80 se inicia su utilización en la alimentación animal, en países como Gran Bretaña, Canadá y España y su aplicación se destacó por el incremento en la producción de pollos de carne en

los años 90 (Brufau, 2014).

Se utiliza en el mejoramiento del valor nutricional del alimento animal en pollos y cerdos, debido al incremento en la utilización de los nutrientes de las dietas ricas en cereales y en el pretratamiento de biomasa lignocelulósica y de forrajes, (Sharma y Chand, 2012; Soroor *et al.*, 2013). La aplicación de xilanasas permite la obtención de oligosacáridos de xilosa a partir de diferentes materias primas. Los productos de la digestión enzimática se utilizan como prebióticos y se emplean como suplemento en la dieta para mejorar la digestión, los parámetros inmunológicos, el rendimiento y el crecimiento animal (Valenzuela, 2012).

Por otra parte, la adición de preparados enzimáticos en las dietas de monogástricos permite el uso de ingredientes de menor calidad, fundamentalmente de alimentos ricos en polisacáridos no amiláceos (PNA) y de esta forma se revaloriza su valor nutritivo (Cortés *et al.*, 2002). La mayoría de los ingredientes alternativos que se usan en las dietas para aves poseen altos niveles de PNA (Dudley-Cash, 2014).

En el caso de las aves, numerosos estudios demostraron que el suministro de dietas suplementadas con xilanasas exógenas, frecuentemente resulta en mejoras en el crecimiento y el índice de conversión de los animales tratados. Estas experiencias han incluido dietas basadas en trigo y cebada y en maíz y harina de soja (Dudley-Cash, 2014). También se ha demostrado que la suplementación con esta proteína posee efectos beneficiosos sobre la microflora intestinal de las aves (Vandeplas y Bodin, 2012). Actualmente se recomienda el uso productos que combinan varias enzimas, los cuales han mostrado efectos superiores en el desempeño de los animales al compararlos con los que contienen solo una enzima (Amerah *et al.*, 2016).

Otro de los efectos beneficiosos de la aplicación de las enzimas en la alimentación de especies monogástricas consiste en la producción de fragmentos de arabinoxilanos (AXOS). Estos compuestos no pueden asimilarse por el animal y atraviesan el intestino delgado para acumularse en el intestino distal y el ciego, principal sitio de actividad de la microflora. Según los resultados obtenidos en diferentes investigaciones los AXOS poseen potencialidades para actuar como prebióticos (Aachary y Prapulla, 2011; Kiarie *et al.*, 2017).

Por otra parte, Adeola y Cowieson (2011), demostraron que la adición de endoxilanasas tiene un efecto beneficioso sobre la microflora que se encuentra a nivel del intestino delgado de las aves. Sing *et al.* (2012), mostraron que la adición de endoxilanasas a una

dieta con 75% de trigo aumentaba las poblaciones de bifidobacterias y lactobacilos en el ciego de pollitas con 30 días de edad. Este efecto se asocia a la presencia de los oligosacáridos de cadena corta producidos por la acción de las enzimas.

## Conclusiones

La producción de enzimas es un campo que está en continuo crecimiento en el área de biotecnología con ventas anuales mundiales de millones de dólares. La tendencia actual consiste en reemplazar algunos procesos químicos tradicionales por procesos biotecnológicos que impliquen microorganismos y/o enzimas. La aplicación de las enzimas en la producción animal es una práctica común debido a la posibilidad de emplear alimentos de bajo valor nutricional. El empleo de residuos agroindustriales, además de favorecer la reducción de los costos en la producción de enzimas, garantiza una estrategia medio ambiental al disminuir la permanencia de residuos de cosechas expuestos al medio ambiente.

## Bibliografía

AACHARY, A.A. AND PRAPULLA, S.G. .Xylooligosaccharides (XOS) as an emerging prebiotic: microbial synthesis, utilization, structural characterization, bioactive properties, and applications. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 10: 2–16. 2011

ABRAHAM, J. Production of proteases from industrial wastes through solid-state fermentation at different scales. Potential application. Tesis (en opción al grado de Doctor en Filosofía, Ciencia y Tecnología Ambiental). Universitat Autònoma de Barcelona. España. 2014.

ADEOLA O & COWIESON AJ. Opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve non-ruminant animal production. *J Anim. Sci* 89, 3189–3218. 2011.

ALVIRA, P. Estudio y formulación de nuevos cocteles enzimáticos para la mejora de la producción de etanol a partir de paja de trigo. Tesis (en opción al grado de Doctor en Ciencias). Universidad Complutense de Madrid. España. 2011.

AMERAH, A. M.; ROMERO, L.F.; AWATI, A.; RAVINDRAN, V. Effect of exogenous xylanase, amylase, and protease as single or combined activities on nutrient digestibility and growth performance. *Poultry Science* 0:1–10. 2016.

BANERJEE, R., PANDEY, A. Bio-industrial applications of sugarcane bagasse: A technological perspective. *Int. Sugar J.*, 104, 64-68. 2002.



BRANDAO, M. Produção de xilanases por *Thermoascus aurantiacus* em cultivo em estado sólido. Tesis (en opción al grado de doctor en Ingeniería Química). Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis. 2003.

BRUFAU, J. Introducción al uso de enzimas en la alimentación animal un proceso de innovación. NutriNews. Aditivos. 17: 21, noviembre. 2014.

CHAKDAR, H., KUMAR, M., PANDIYAN, K., & SINGH, A. Bacterial xylanases: biology to biotechnology. *3 Biotech*, 6(2), 1–15. Disponible en :<http://doi.org/10.1007/s13205-016-0457-z>. 2016.

CORTÉS, C. A.; ÁGUILA, S. R. Y ÁVILA, G. E. La Utilización de enzimas como aditivos en dietas para pollos de engorda. *Vet. Méx. Universidad Nacional Autónoma de México*. México D. F.: 33. 2002.

DÍAS, A. Reciclado del orujo de uva como medio sólido de fermentación para la producción de enzimas hidrolíticas de interés industrial. Tesis (en opción al grado de Doctor en Ciencias). Universidad de Cádiz. España. 2009.

DHOLPURIA, S., & BAJAJ, B. K. Production and Purification of alkali stable xylanase from *Bacillus* sp . *International Journal of Microbial Applied Sciences*, 3(3), 365–377. 2014.

DUDLEY-CASH, B. La respuesta de las aves a las enzimas NSP varían. Selecciones avícolas. Enero: 16-18. 2014.

EL-SHARNOUBY GA, ALEID SM, AL-OTAIBI MM. Nutritional quality of biscuit supplemented with wheat bran and date palmnfruits (*Phoenix dactylifora* L.). *Food Nutr Sci* 3:322–328. 2012.

FADEL, M.; ABEER, A.; KEERA, SHADIA; ABDEL-AZIZ, M; KAHIL, T. Clean Production of Xylanase from White Corn Flour by *Aspergillus fumigates* F-993 under Solid State Fermentation. *World Appl. Sci. J.*, 29 (3): 326-336. 2014.

FUJIWARA, K.; YMAZAKI, M.; ABE, H.; NAKASHIMA, K.; YAKABE, Y.; OTZUKA, M.; OHBAYASHI, Y; KATO, Y.; NMAI, K.; TOYODA, A.; MIYAGUCHI, Y. AND NAKAMURA, Y. Efectt of *Bacillus subtilis* varr. Nato fermented soybean on growth performance, microbial activity in the caeca and cytokine gene expression of domestic meattypchickens. *J. Poult. Sci.* 46: 116-122. 2009.

GALLARDO ROMÁN, O. Caracterización de Nuevas Xilanasas Bacterianas. Ingeniería de Enzimas con la Xilanasa B de *Paenibacillus barcinonensis*. España. 250 h. Tesis (en opción al grado de Doctor en Ciencias Biológicas) – Universidad de Barcelona.

GARG, S. 2016. Xylanase: Applications in Biofuel Production. *CurrentMetabolomics*.4: 23-37. 2007.

GAUR, R., & TIWARI, S. Isolation, production, purification and characterization of an organic-solvent-thermostable alkalophilic cellulase from *Bacillus vallismortis* RG-07. *BMC Biotechnology*, 15(1), 19. <http://doi.org/10.1186/s12896-015-0129-9>. 2015.

GONZÁLEZ, E. Utilización de enzimas fibrolíticas en cabras lecheras. Evaluación de su actividad y características fermentativas in vitro. Tesis en opción al grado de Doctor en Ciencias, Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona, España. 2004.

GONZÁLEZ, M. La agroindustria cañera cubana: transformaciones recientes. Editorial Blinder Center for Western Hemisphere Studies. New York. 2015.

HOOI LING HO AND KE LI HENG. Biodiversity , Bioprospecting and Development Xylanase Production by *Bacillus subtilis* in Cost-Effective Medium Using Soybean Hull as Part of Medium Composition under Submerged Fermentation ( SmF ) and Solid State Fermentation ( SsF ). *J Biodivers Biopros Dev*, 2(1), 1–13. Disponible en : <http://doi.org/http://dx.doi.org/10.4172/2376-0214.1000143>. 2015.

JORDAN, D., BOWMAN, M., BRAKER, J., DIEN, B., HECTOR, R., LEE, C., MERTENS, J., WAGSCHAL, K. Plant cell walls to ethanol. *Biochem. J.* 442, 241-252. 2012.

KIARIE, E.; ROMERO, L. F.;& NYACHOTI, C. M. The role of added feed enzymes in promoting gut health in swine and poultry *Nutrition Research Reviews. Nutrition Research Reviews*, 26(2013), 71–88. <http://doi.org/10.1017/S0954422413000048> 2017.

KNOB, A.,FORTKAMP, D., PROLO, T., IZIDORO, S., ALMEIDA, J., MUSSATTO, S. I., BALLESTEROS, L. F., MARTINS, S., & TEIXEIRA, J. A. Agro-residues as Alternative for Xylanase Production by Filamentous Fungi. *Bioresources* 9:(3), 5738-5773. 2012.

MAKI, M.; TIN, K.; QIN, W. The prospects of cellulose-producing bacteria for bioconversion of lignocellulosic biomass. *Int J. Biol. Sci.* 5 (5): 5000-513. 2009.

MARTÍN, P. C. El uso de los residuos agroindustriales en la alimentación animal en Cuba: pasado, presente y futuro. *Avances en investigación agropecuaria.* 13 (3): 3-10 ISSN 0188789-0. 2009.

MEIMA R, VAN DIJL, JM, HOLSAPPEL S, BRON S: Expression systems in *Bacillus*. In *Expression technologies: current status and future trends* Edited by: Baneux F. Wymondham, UK, Horizon Scientific Press. 2004.

MUSSATTO, S. I., BALLESTEROS, L. F., MARTINS, S., & TEIXEIRA, J. A.. Use of Agro-Industrial Wastes in Solid-State Fermentation Processes. In Kuan-Yeow Show (Ed.), *Industrial Waste*. In Tech. Disponible en : <http://www.intechopen.com/books/industrial-waste/use-of-agro-industrial-wastes-in-solid-state-fermentation-processes>. 2012

PÉREZ, M., PIAD, R., MILIÁN, G., DAS GRACAS. F., FERREIRA, A., DE MANCILHA. M., LAURENCIO, M., DE ALMEIDA, J. Preparation of a crude enzymatic from *Bacillus licheniformis* E-44 and its evaluation in the hydrolysis of *Saccharomyces cerevisiae* cell walls. *Enzyme and Microbial Technology* 40 (2007) 452–455. 2007.

PIAD, R., PÉREZ, M., MILIAN, G., LAURENCIO, M., SÁNCHEZ, L., MEDINA, E., RONDÓN, AJ., SAMANIEGO, LM. Efecto de un hidrolizado enzimático de *Saccharomyces cerevisiae* en pollitas de reemplazo de ponedoras. Indicadores inmunológicos e hematológicos. *Revista Salud Animal*. 27 (2): 109-114. 2006.

PURICH, D.L. *Enzymes Kinetics: Catalysis and control*. A references of theory and best practice methods. Ed. Elsevier: 1-49. 2010

RODRÍGUEZ, E.; LEÓN, V.; PÉREZ, A.; RAMÍREZ, D. Caracterización de residuos agroindustriales con vista a su aprovechamiento. *Revista centro de Azúcar*. Vol. Disponible en:<http://centroazucar.uclv.edu.cu>. 2016

RODRÍGUEZ FRÓMETA, R. A. Aplicación de la fermentación en estado sólido a la producción de pectinas empleando pulpa de café. La Habana. 100 h. Tesis (en opción al título de Master en Ciencias y Tecnología de Procesos Biotecnológicos) – Universidad de La Habana. 1999.

SANGHI, A., GARG, N., SHARMA, J., KUHAR, K., KUHAD, R. C., & GUPTA, V. K. Optimization of xylanase production using inexpensive agro-residues by alkalophilic *Bacillus subtilis* ASH in solid-state fermentation. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(5), 633–640. Disponible en: <http://doi.org/10.1007/s11274-007-9521-5>. 2008.

SHARMA, P.K.; CHAND, D. Purification and Characterization of Thermostable Cellulase Free Xylanase from *Pseudomonas* ssp. XPB-6. *Advances in Microbiology*. 2: 17-25. 2012.

SCHALLMEY, M.; SINGH, A.; WARD, O.P. Developments in the use of *Bacillus* species for industrial production. *Can J Microbiol*. 2004,50:1-17. 2004.

SING, A., O'NEILL, O. AND GHOSH, T. Effects of xylanase supplementation on performance, total volatile fatty acids and selected bacterial population in caeca, metabolic indices and peptide YY concentrations in serum of broiler chickens fed energy restricted maize-soybean based diets. *Animal Feed Science and Technology*, 177(3-4):194-203. 2012.

SOROOR, MAGDA; GHAZY, A.RH.; MAHDY, E.S.; EL-BADRY, M.O.; SHOUSHA, G.; EL-KHONEZY, M. Purification and characterization of cellulase-poor xylanases from *Trichoderma reesei* F418 grown on rice straw by solid-state fermentation. *Journal of Applied Sciences Research*, 9(3): 1702-1713. 2013.

SOUZA, G.;ARRUDA, E. Y MATTOS, M. Enzymes in animal diets: benefits and advances of the last 25 years. *Zootecnia* .1(1): 25-35. 2014.

SUGUMARAN, K. R.; KUMAR, B.K.; MAHALAKSHMI, M.; PONNUSAMI, V. Cassava bagasse – Low cost substrate for thermos tolerant xylanase production using *Bacillus subtilis*. *IJCRGG*Vol.5, No.1: 394-400. 2013.

VALENZUELA MAYORGA, S. V. Proteómica de Xilanasas *sbarcinonensis*. Proyecciones biotecnológicas. España. 165 h. Tesis (en opción al grado de Doctor en Ciencias Biológicas) – Universidad de Barcelona. 2012.

VANDEPLAS, S. Y BODIN, J-C. Acción de una xilanasas producida por *Bacillus subtilis*. Efectos sobre la flora intestinal y el estado sanitario en las aves. *Jefo. Selecciones avícolas*. 1, noviembre. 2012.

WESTERS, L.; WESTERS, H.; QUAX, W.J. *Bacillus subtilis* as cell factory for pharmaceutical proteins: a biotechnological approach to optimize the host organism. *Biochim. Biophys Acta*. 1694: 299-310.8. 2004.

ZHANG, H.; SANG, Q.; ZHANG, W. Statically optimization of cellulose production by *Penicillium chrysogenum* QML-2 under solid-satae fermentation and primary application to chitosan hydrolysis, *World J. microbial Biotecnol*. 28:1163-1174. 2012.

ZHANG, Z., LI, J., FENG, F., LIU, D., PANG, Q., LI, M., & CHEN, K. Optimization of Nutrition Constituents for Xylanase Activity by *Rhizopus stolonifer* Under Solid-State Fermentation on Corncob. *Bioresources.com*, 8(2013), 2018–2032. 2018.

ZWEERS J.C.; BARÁK, I.; BECHER, D.; DRIESSEN, A.; HECKER, M.; KONTINEN, V.; SALLER M.; VAVROVÁ, L. AND MAARTEN VAN DIJL, J. TOWARDS. The development of *Bacillus subtilis* a cell factory for membrane proteins and protein complexes. *Microbial Cell Factories*, 7:10. 2008.