



## TALLER PROCESOS BIOTECNOLÓGICOS

### 1. DATOS GENERALES

ESPECIALIDAD: Química Aplicada a la Industria

COMPETENCIA: Conducción de procesos de biotransformación de acuerdo con tipo de producto y plan de producción

ACTIVIDAD DE PROYECTO: 3.3.7, 3.3.8

RESULTADO DE APRENDIZAJE: Establecer las condiciones del proceso biotecnológico, teniendo en cuenta las características de los microorganismos, del metabolito de interés, las variables de control y el plan de producción.

ACTIVIDAD APRENDIZAJE – EVALUACIÓN: Evidencia 6: Respuestas a preguntas sobre procesos biotecnológicos: etapas, equipos, medios de cultivo, sustratos e inóculos

### 2. INSTRUCCIONES PARA EL DILIGENCIAMIENTO

A continuación usted encontrará una serie de preguntas a las cuales deberá contestar de acuerdo al material y la bibliografía dadas por el Instructor. Recuerde que las preguntas deberán ser resultas individualmente, pero puede utilizar el trabajo colaborativo con sus compañeros para aclarar, sustentar y argumentar las respuestas.

Taller: Introducción a la Producción de Celulasas a partir de Residuos Vegetales

Objetivo del taller

Que los aprendices, a partir de una lectura corta y contextualizada, identifiquen y comprendan las etapas de un proceso biotecnológico, reconozcan los componentes del medio de cultivo, los métodos de seguimiento del proceso, los equipos involucrados y manejen conceptos básicos relacionados con la producción de enzimas celulolíticas.

Lectura: Producción de celulasas a partir de bacterias usando residuos vegetales

Las celulasas son enzimas de gran importancia industrial, utilizadas en sectores como alimentos, papel, detergentes, biocombustibles y tratamiento de residuos. Estas enzimas tienen la capacidad de degradar la celulosa, un polisacárido abundante presente en residuos vegetales como cáscaras, bagazo, rastrojos agrícolas y restos de poda.

Un enfoque sostenible para la obtención de celulasas es el uso de bacterias, ya que estas presentan rápido crecimiento y facilidad de adaptación a distintos sustratos. El proceso productivo inicia con la selección de una bacteria capaz de producir celulasas y un sustrato adecuado, que generalmente corresponde a residuos vegetales ricos en celulosa.

La producción de las celulasas por parte de microorganismo se posiciona como un campo de estudio de creciente relevancia. Comprender en profundidad este proceso implica una exploración minuciosa de sus elementos esenciales, desde los microorganismos involucrados hasta los factores ambientales que modelan su producción, junto con las técnicas de cultivo que rigen su obtención. En el epicentro del proceso se encuentran los microorganismos, cuya singularidad bioquímica y capacidad intrínseca para la biosíntesis de celulosa han capturado la atención de investigadores (S. González Arranz, 2021). Entre las cepas de especial relevancia se destacan hongos y bacterias del género *Bacillus*, organismos que exhiben una extraordinaria aptitud para la excreción de celulosa extracelular durante su ciclo vital. Este fenómeno biológico, relacionado con la excreción meticulosa de celulosa extracelular por parte de los microorganismos, es la base de la producción eficiente de celulosa (J. A. Toscano Avila, 2019). La producción de las enzimas celulasas está estrechamente vinculada a factores ambientales cuya gestión precisa es crucial para obtener los resultados deseados. La temperatura de cultivo, generalmente mantenida en un rango termodinámico de 25-30°C, es importante en el desarrollo de la producción celulósica. Sin embargo, esta cifra puede ser objeto de ajustes específicos en función de la cepa bacteriana empleada y las variables de producción. De manera análoga, el pH del medio de cultivo desempeña un papel de relevancia, con

un rango óptimo de actividad enzimática que oscila entre 5.5 y 7.0, aunque nuevamente, este parámetro puede ser sometido a ajustes particulares según la especie bacteriana y el sustrato utilizado. La disponibilidad de nutrientes, comprendiendo fuentes de carbono, nitrógeno y oligoelementos, influencia en el crecimiento bacteriano y, por consiguiente, en la producción de celulosa. La gestión de estos componentes es indispensable para sustentar un crecimiento bacteriano saludable y el desarrollo de una celulosa de elevada calidad (G. O. Jean, 2020). La fase de inoculación implica la introducción de la cepa bacteriana en un medio de cultivo estéril, durante un período de tiempo definido. La agitación y oxigenación aseguran la homogeneidad en la distribución de nutrientes y oxígeno en el cultivo. Finalmente, una vez que se alcanza la cantidad deseada de celulosa, se procede a su recolección, lavado y procesamiento subsiguiente, preparándose para su uso. (J. L. C. Pacheco, 2004)

Para iniciar el proceso biotecnológico, es necesario preparar un preinóculo, el cual consiste en cultivar la bacteria en un medio líquido estéril, generalmente en pequeñas cantidades, con el fin de activar su crecimiento y asegurar su viabilidad. Posteriormente, este preinóculo se transfiere a un volumen mayor, denominado inóculo, que será utilizado para iniciar la fermentación.

Antes de la fermentación, todos los medios de cultivo, materiales y equipos deben someterse a un proceso de esterilización, comúnmente mediante el uso de una autoclave, con el objetivo de eliminar microorganismos no deseados que puedan contaminar el proceso.

La fermentación se lleva a cabo en recipientes apropiados, como frascos Erlenmeyer en etapas iniciales o en un biorreactor a nivel más controlado. Durante esta etapa, las bacterias crecen y producen celulasas utilizando el sustrato presente en el medio. Un medio de cultivo común para evaluar la producción de celulasas contiene CMC (carboximetilcelulosa), que actúa como fuente de carbono y como inductor de la producción enzimática.

El proceso fermentativo se monitorea mediante diferentes parámetros, como el recuento bacteriano, la medición del pH, la determinación del consumo de azúcares y la observación microscópica tras una coloración de Gram, que permite verificar la pureza y características de la bacteria.

Finalizada la fermentación, se procede a la separación de las células del caldo fermentado, usualmente mediante una centrifuga. El sobrenadante obtenido contiene la enzima celulasa. Para mejorar su calidad, se puede realizar una purificación enzimática, que busca separar la celulasa de otras proteínas y compuestos presentes.

Durante todo el proceso se emplean equipos como incubadoras para el crecimiento del preinóculo, baños termostatados para pruebas de actividad enzimática y sistemas de agitación para garantizar una adecuada transferencia de oxígeno y nutrientes.

Este conjunto de etapas conforma un proceso biotecnológico, en el cual se emplean microorganismos, sustratos y condiciones controladas para obtener un producto de valor agregado a partir de residuos, contribuyendo a la economía circular y la sostenibilidad.

## **Taller: Producción de Celulasas a partir de Residuos Vegetales**

### **1. Comprensión del proceso biotecnológico**

- 1.1. Explique con sus propias palabras qué es un proceso biotecnológico y cómo se aplica en la producción de celulasas.
- 1.2. ¿Por qué las celulasas son importantes en la industria? Mencione al menos tres sectores donde se usan y justifique su importancia.

### **2. Microorganismos y sustratos**

- 2.1. ¿Qué características debe tener una bacteria para ser adecuada en la producción de celulasas?
- 2.2. Elabore una tabla con al menos cinco ejemplos de sustratos vegetales ricos en celulosa.
- 2.3. Explique por qué los residuos vegetales son una alternativa sostenible como fuente de sustrato.

### **3. Etapas del proceso productivo**

3.1. Describa brevemente en qué consiste cada una de las etapas: preinóculo, inóculo, esterilización, fermentación, seguimiento del proceso, separación celular y purificación enzimática.

3.2. Ordene las etapas anteriores en un diagrama de flujo simple.

#### 4. Condiciones de cultivo y producción

4.1. ¿Cuál es el rango óptimo de temperatura y pH para la producción de celulasas según la lectura? Explique por qué son importantes estos rangos.

4.2. ¿Qué papel cumplen las fuentes de carbono, nitrógeno y micronutrientes en el crecimiento microbiano?

4.3. Explique por qué el CMC es utilizado como inductor en la producción de celulasas.

#### 5. Monitoreo de la fermentación

5.1. Mencione cuatro parámetros que deben controlarse durante la fermentación y explique la finalidad de cada uno.

5.2. ¿Qué riesgo representa no realizar un monitoreo adecuado del proceso fermentativo?

#### 6. Equipos biotecnológicos

Complete la siguiente tabla: Autoclave, Incubadora, Biorreactor, Centrífuga, Baño termostático, Espectrofotómetro, Cabina de flujo laminar.

6.2. ¿Por qué es crítico garantizar la esterilidad en un proceso biotecnológico?

#### 7. Análisis y aplicación

7.1. Si durante la fermentación el pH baja rápidamente, ¿qué podría estar ocurriendo?

7.2. ¿Qué pasaría si se inocula una fermentación con un cultivo que NO está en fase exponencial?

7.3. Explique por qué, al separar el caldo fermentado, la celulasa de interés se encuentra en el sobrenadante y no en el pellet.

#### 8. Reflexión final

8.1. Desde una perspectiva de economía circular, explique cómo la producción de celulasas a partir de residuos vegetales puede contribuir con la sostenibilidad ambiental y económica.

#### Bibliografía

S. González Arranz, "Diseño de un nuevo material sostenible a partir de celulosa bacteriana de residuos orgánicos de producción local en un marco de economía circular," Tesis de Bachillerato, Universidad Politécnica de Madrid, Ciudad de Madrid, Madrid, 2021.

J. A. Toscano Avila, "Estimación de vida útil de mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth) a partir del recubrimiento de celulosa bacteriana producida por *Komagataeibacter xylinus*," Bachelor's thesis, Universidad Técnica de Ambato, Ambato, Tungurahua, 2019.

G. O. Jean, "Aplicación de microalgas para la remoción de nutrientes en efluentes agrícolas: Revisión de literatura," Tesis de Bachillerato, Universidad Zamorano, San Antonio de Oriente, Francisco Morazán, 2020.

J. L. C. Pacheco, S. K. M. Yee, M. L. C. Zentella y J. E. E. Marvan, "Celulosa bacteriana en *Gluconacetobacter xylinum*: biosíntesis y aplicaciones," Revista Especializada En Ciencias Químico Biológicas, vol. 7, (1), mar., pp. 18-25, 2004.

APROBADO		OBSERVACIÓN
AUN NO APROBADO		

Firma Instructor \_\_\_\_\_ Firma Aprendiz \_\_\_\_\_