



MÓDULO:

BIOPROCESOS

Prof.

Escuela de Ingeniería agroindustrial

Página 1 de 94

# BIOPROCESOS EN LA AGROINDUSTRIA

ISBN: 978-958-5542-34-1

Escuela de ingeniería agroindustrial

Instituto Universitario de La Paz

2020

	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 2 de 94

## TABLA DE CONTENIDO

1	INTRODUCCIÓN	4
2	OBJETIVOS	5
3	UNIDAD 1: INTRODUCCIÓN A LOS BIOPROCESOS	6
	3.1 HISTORIA	6
	3.2 BIOPROCESO	6
	3.3 CARACTERÍSTICAS DE UN BIOPROCESO	7
	3.4 ASPECTOS BÁSICOS DE UN PROCESO BIOTECNOLÓGICO	8
	3.5 BIOPROCESOS Y MEDIOAMBIENTE	9
	3.6 ORGANISMOS Y MICROORGANISMOS DE INTERÉS INDUSTRIAL	10
4	UNIDAD 2: METABOLISMO	17
	4.1 METABOLITOS PRIMARIOS	17
	4.2 METABOLITOS SECUNDARIOS	18
	4.3 CRECIMIENTO MICROBIANO	18
	4.4 CRECIMIENTO ESTEOQUIMÉTRICO	19
	4.5 CINÉTICA DE CRECIMIENTO MICROBIANO	21
	4.6 MICROORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS	22
	4.7 ALIMENTOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS (GM)	23
5	UNIDAD 3: TECNOLOGÍA ENZIMÁTICA	25
	5.1 ENZIMAS COMO CATALIZADORES	26
	5.2 CINÉTICA ENZIMÁTICA	27
	5.3 MODELO CINÉTICO DE MICHAELIS-MENTEN	29
	5.4 INMOVILIZACIÓN DE CÉLULAS Y ENZIMAS	32
	5.5 ENZIMAS EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA	37

	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 3 de 94

6	UNIDAD 4: BIOTECNOLOGÍA	44
	6.1 DISEÑO DE MEDIOS DE CULTIVO	44
	6.2 USO DE RESIDUOS AGROINDUSTRIALES	50
	6.3 DISEÑO DE BIOREACTORES	58
	6.4 REACTOR BIOLÓGICO Y SU DISEÑO	65
7	UNIDAD 5: OPERACIONES DE SEPARACIÓN Y PURIFICACIÓN	68
	7.1 MÉTODOS DE SEPARACIÓN	68
	7.2 CENTRIFUGACIÓN	70
	7.3 FILTRACIÓN	71
	7.4 CROMATOGRAFÍA	72
	7.5 ELECTROFORESIS	73
	7.6 LIOFILIZACIÓN	75
	7.7 EXTRACCIÓN LIQUIDO-LIQUIDO	76
	7.8 EXTRACCIÓN SOLIDO-LIQUIDO	78
	7.9 SEPARACIÓN POR MEMBRANAS	80
8	BIBLIOGRAFÍA	84
9	ACTIVIDADES	86

	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 4 de 94

## 1 INTRODUCCIÓN

Los Procesos Biotecnológicos, conocidos como Bioprocesos, han acompañado el desarrollo humano desde los albores de la civilización y en la actualidad están ganando cada vez más atención debido a su enorme potencial para la obtención de valiosos productos, especialmente para el cuidado de la salud humana y a causa de su inherente atributo como procesos sostenibles.

Nuevas bioindustrias tienen gran potencial por ser procesos eficientes basados en recursos renovables y caracterizados por una mínima contaminación ambiental. Por ejemplo, los modernos métodos de optimización de enzimas e ingeniería metabólica son poderosas herramientas para el desarrollo de novedosos y eficientes biocatalizadores. El desarrollo de nuevos procesos se refuerza con la aplicación de las modernas técnicas de simulación y modelación, combinados con métodos de evaluación que se aplican sistemáticamente en las primeras etapas del proceso de desarrollo.

La futura sostenibilidad esencialmente depende de la habilidad de la industria para desarrollar nuevos procesos que sean exitosos comercialmente a corto y largo plazo; amigables con el ambiente, que emplean el mínimo de recursos, preferentemente renovables, que significan una muy pequeña carga para el medio ambiente; y que satisfagan las necesidades de la sociedad.

	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 5 de 94

## 2 OBJETIVOS

Este módulo de bioprocesos tiene planteados unos objetivos con el fin de transmitir y maximizar el aprendizaje de los estudiantes de ingeniería agroindustrial y familiarizarlos en la fundamentación química, biológica y matemática de los bioprocesos en la vida cotidiana.

- Introducir al estudiante a los bioprocesos.
- Resaltar aspectos básicos de un proceso biotecnológico.
- Definir conceptos básicos de organismos y microorganismos de interés industrial.
- Definir metabolitos primarios y secundarios.
- Estudiar la estequiometría y cinética del crecimiento microbiano.
- Introducir al estudiante a los microorganismos genéticamente modificados.
- Estudiar la cinética enzimática.
- Analizar métodos de inmovilización de células y enzimas.
- Resaltar la aplicación de enzimas en la industria alimentaria.
- Explicar las características principales de los medios de cultivo.
- Analizar el uso de residuos alimentarios como materia prima para sub-productos.
- Definir los tipos de biorreactores en la industria.
- Describir las operaciones unitarias de separación que se involucran en los bioprocesos.

	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 6 de 94

### 3 INTRODUCCIÓN A LOS BIOPROCESOS

#### 3.1 HISTORIA

- Desde 5000 AC las civilizaciones egipcias y más tarde las chinas comienzan a producir alimentos y bebidas fermentadas.
- Sin embargo, pasan casi 7000 años para descubrir el origen microbiano de la fermentación (1856).
- Otros 50 en utilizar las bacterias para producir compuestos químicos industriales (1900).
- 70 años más para obtener el primer organismo transgénico (1972).
- Y 5 años más para la obtención de la primera proteína humana expresada en bacteria. (somatostatina 1977).



#### 3.2 BIOPROCESO

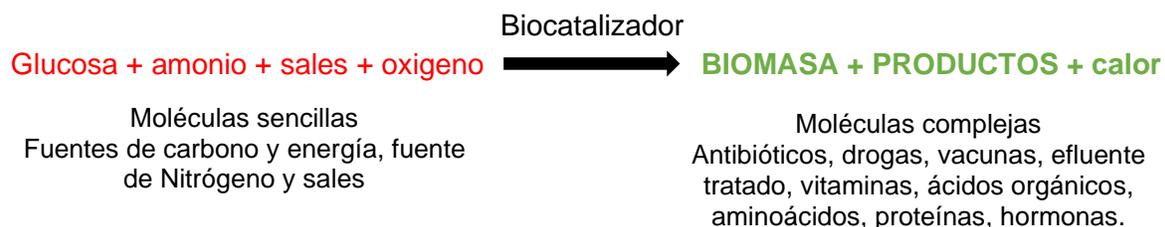
Es todo proceso industrial que involucra la manipulación de organismos vivos o sus componentes celulares para proveer bienes o servicios.

**Bienes:** antibióticos, hormonas, fermentos, vacunas, ácidos orgánicos, aminoácidos, biocombustibles, biomasa, etc.

**Servicios:** bioremediación, biolixiviación, tratamiento de efluentes.

De acuerdo con su definición tenemos: bioprocesos y biotransformaciones.

**Bioproceso** son los procesos mediante los cuales determinados sustratos (nutrientes) son transformados por acción biológica (microorganismos, células, tejidos) en biomasa y diversos productos.

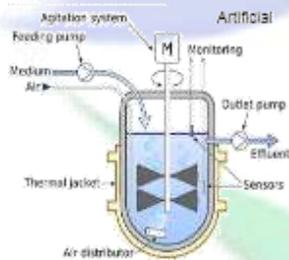


**Biotransformación** son los procesos en los que los sustratos naturales o sintéticos son modificados por medio de una actividad enzimática.



### 3.3 CARACTERÍSTICAS DE UN BIOPROCESO

- **Uso de un catalizador biológico:** enzimas, microorganismos, células vegetales, células animales, células insecto, hongos filamentosos, algas, plantas y plantas.
- **Uso de un bioreactor:** la reacción ocurre de forma controlada.



Fuente. Disponible en: <https://docplayer.es/3572224-Introduccion-a-los-bioprosesos.html>

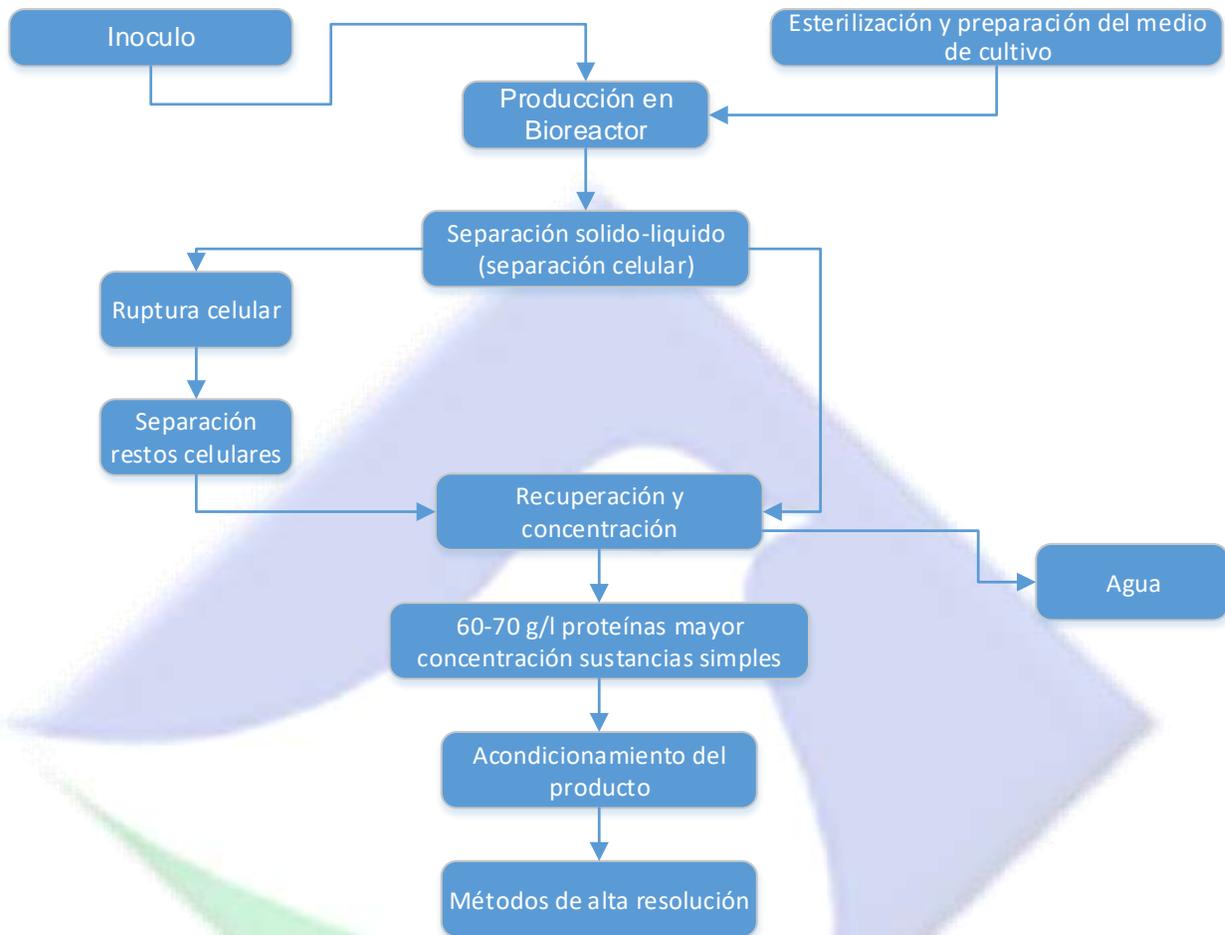
### 3.4 ASPECTOS BÁSICOS DE UN PROCESO BIOTECNOLÓGICO

Procesamiento corriente arriba	Proceso	Procesamiento corriente abajo
<b>Elección del microorganismo.</b>	Elección del reactor	Recuperación del producto por operaciones unitarias físicas o químicas.
<b>Preparación de medio (formulación).</b>	Elección del sistema de operación: Batch, alimentado, sistema continuo, etc	Acondicionamiento y estabilización del producto.
<b>Esterilización.</b>	Estequiometría y cinética	Formulación del producto.
<b>Preparación del inculo.</b>	Instrumentación y control	

#### Elección del microorganismo productor

- A partir del microorganismo productor wild type.
- Microorganismos modificados genéticamente para tal fin.
- Recurrir a sistemas de expresión heteróloga.

## Generación de un producto o servicio



Esquema general de un proceso biotecnológico

### 3.5 BIOPROCESOS Y MEDIOAMBIENTE

En comparación con las tecnologías químicas convencionales y otros procesos industriales similares, los bioprocesos representan una alternativa más sostenible y respetuosa con el medio ambiente para la producción de combustibles y productos químicos de plataforma. En las biorrefinerías, los microorganismos (por ejemplo, bacterias, hongos, algas) pueden utilizar y fermentar diferentes tipos de materias primas, como la biomasa o los materiales lignocelulósicos en general, después de algunas etapas de pretratamiento, para producir metabolitos de alto valor añadido. Más recientemente, se ha demostrado que los desechos,

	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 10 de 94

las aguas residuales y también los gases residuales son adecuados para la recuperación de recursos o para su bioconversión en (bio)combustibles (por ejemplo, etanol, butanol, hexanol, biodiésel, biohidrógeno, biogás) u otros productos comerciales (por ejemplo, biopolímeros). En este sentido, también se ha realizado un gran esfuerzo para bioconvertir los gases de efecto invernadero, como el CO<sub>2</sub>, en productos útiles.

Figura 1. Biocombustibles.



Fuente. Disponible en: <http://www.portalcania.com.ar/noticia/biocombustibles-en-argentina-su-uso-esta-en-pleno-crecimiento/>

### 3.6 ORGANISMOS Y MICROORGANISMOS DE INTERÉS INDUSTRIAL

#### Bacterias

Bajo la denominación de bacterias se engloba a un heterogéneo grupo de seres vivos celulares, antiguos y bien adaptados a todos los tipos de ambientes. Las bacterias son procariotas, es decir, su material genético (ADN) no está rodeado y separado por una membrana del resto del citoplasma. A diferencia de los organismos eucariotas no posee verdadero núcleo.

#### Estructura de las bacterias

**Pared celular.** Es una estructura rígida protectora, exterior a la membrana plasmática.

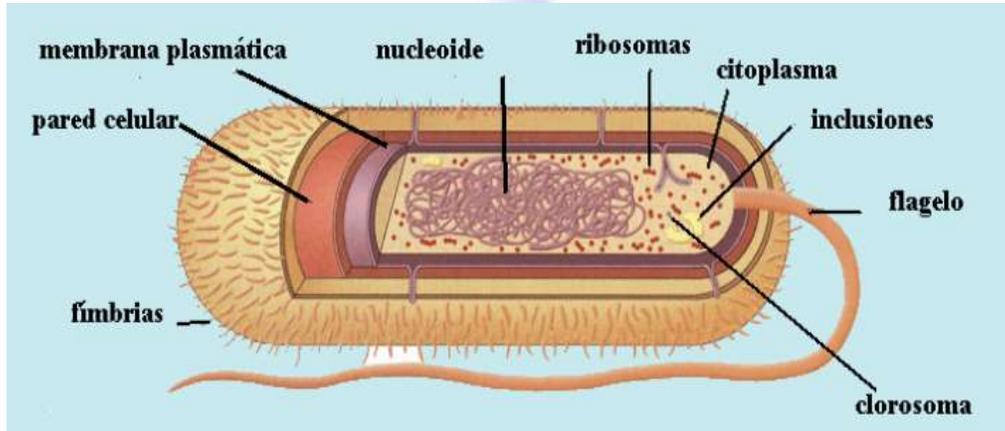
**Flagelos.** Son filamentos de proteína que permiten el movimiento.

**Fimbrias.** Estos filamentos de proteína permiten la fijación al sustrato.

**Membrana plasmática.** Envuelve el interior de la célula y puede presentar zonas invaginadas, denominadas mesosomas, con funciones especiales, por ejemplo, para realizar la fotosíntesis.

**Citoplasma.** Constituye el interior de la célula. Está formado por el hialoplasma o líquido celular y los orgánulos.

Figura 2. Estructura de una célula procariota



Fuente. Bacteria. Disponible en: [http://fresno.pntic.mec.es/msap0005/1eso/T09-virus-bacteria-otros/Tema\\_9.htm](http://fresno.pntic.mec.es/msap0005/1eso/T09-virus-bacteria-otros/Tema_9.htm)

### Clasificación de las bacterias

**Arqueobacterias.** Son bacterias que viven en ambientes extremos, volcanes, aguas termales, antárticas, ácidas o alcalinas y lugares con alta concentración de sales.

**Eubacterias.** Son las bacterias más abundantes. Dentro de este grupo están las bacterias convencionales y las micoplasmas, carecen de pared celular. Un grupo especial de las cianobacterias capaces de producir oxígeno mediante la fotosíntesis y responsables de la presencia de este gas y la capa de ozono en la atmósfera.

 Instituto Universitario de La Paz UNIPAZ	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 12 de 94

Figura 3. Bacterias.



Fuente. Disponible en: [http://fresno.pntic.mec.es/msap0005/1eso/T09-virus-bacteria-otros/Tema\\_9.htm](http://fresno.pntic.mec.es/msap0005/1eso/T09-virus-bacteria-otros/Tema_9.htm)

## Algas

Las algas son organismos eucarióticos que realizan la fotosíntesis. Tienen células semejantes a las vegetales, pero se diferencian de las plantas porque carecen de verdaderos tejidos, viven en el medio acuático, dulce o marino, flotando o fijas al sustrato. Pueden ser unicelulares o pluricelulares y presentan diversas morfologías y tamaños. Las algas poseen clorofila, de color verde y otros pigmentos de color diverso.

GRUPOS DE ALGAS		
Rodófilos o algas rojas	Cromófilos o algas pardodoradas	Clorofilos o algas verdes
<p>Contienen pigmentos pardo-rojizos.</p> <p>Tienen cloroplastos sencillos.</p> <p>Algunas se utilizan como alimento, tienen vitaminas y proteínas.</p> <p>Son importantes en la industria farmacéutica y cosmética al extraerles el <b>agar</b>.</p>	<p>Sus pigmentos son pardoverdosos.</p> <p>Son pluricelulares con talos filamentosos ramificados o foliosos y estructuras parecidas a hojas, tallos, raíces.</p> <p>Miden hasta 70 m.se usan como espesantes y emulsificantes en la industria química.</p>	<p>Contienen pigmentos clorofílicos.</p> <p>Poseen verdadero almidón dentro de los cloroplastos y tiene células flageladas.</p> <p>Pueden ser unicelulares y pluricelulares.</p>
		

## Hongos

Los hongos son organismos eucarióticos, heterótrofos, unicelulares o pluricelulares con estructura talo, poseen pared celular, parecida a la de los vegetales, pero no tienen celulosa. Los hongos se reproducen asexualmente por esporas, aunque muchos también pueden reproducirse sexualmente.

## Importancia de los hongos

Los hongos suelen ser saprofitos, aunque muchos de ellos son parásitos y causan enfermedades en plantas, como por ejemplo el mildiu de la vid, en animales y en humanos,

	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 14 de 94

a las que llamamos micosis (infección causada por hongos), por ejemplo, la tina, el pie de atleta o la candidiasis.

También hay hongos que viven en simbiosis con otros seres vivos. Es el caso de las micorrizas, asociadas a las raíces de las plantas e imprescindibles para que el bosque se encuentre en un estado saludable. Su presencia resulta clave en el reciclado de materia orgánica, en la descomposición de troncos muertos. Los hongos también sirven como alimentos, antibióticos o para fabricar pan, cerveza o vinos.

### Clasificación de los hongos

- **Levaduras:** son hongos unicelulares capaces de multiplicarse por gemación. Las levaduras llevan a cabo la fermentación, proceso metabólico que sucede en condiciones anaeróbicas, de azúcares. Por eso son frecuentes sobre flores, frutos o alimentos. En la fermentación se producen alcoholes (etanol) y dióxido de carbono.
- **Mohos:** son hongos filamentosos y por lo tanto, pluricelulares. Son frecuentes en la naturaleza, crecen sobre materia orgánica en descomposición, como troncos, frutas, hojas. Sobre alimentos como el pan, el queso entre otros.
- **Setas:** el micelio de ciertos hongos filamentosos da lugar a estructuras reproductoras llamadas setas. Durante la mayor parte del tiempo el hongo vive como un micelio subterráneo, pero en condiciones favorables, con humedad y un ambiente templado, se forman las setas. Existen otros tipos de setas las más conocidas son las que tienen aspecto de sombrerillo, algunas son comestibles pero otras muy tóxicas.



**Figura 4.** Levadura *Candida albicans*, *Penicillium roqueforte* y *Boletus regius*. Disponible en: [http://fresno.pntic.mec.es/msap0005/1eso/T09-virus-bacteria-otros/Tema\\_9.htm](http://fresno.pntic.mec.es/msap0005/1eso/T09-virus-bacteria-otros/Tema_9.htm)





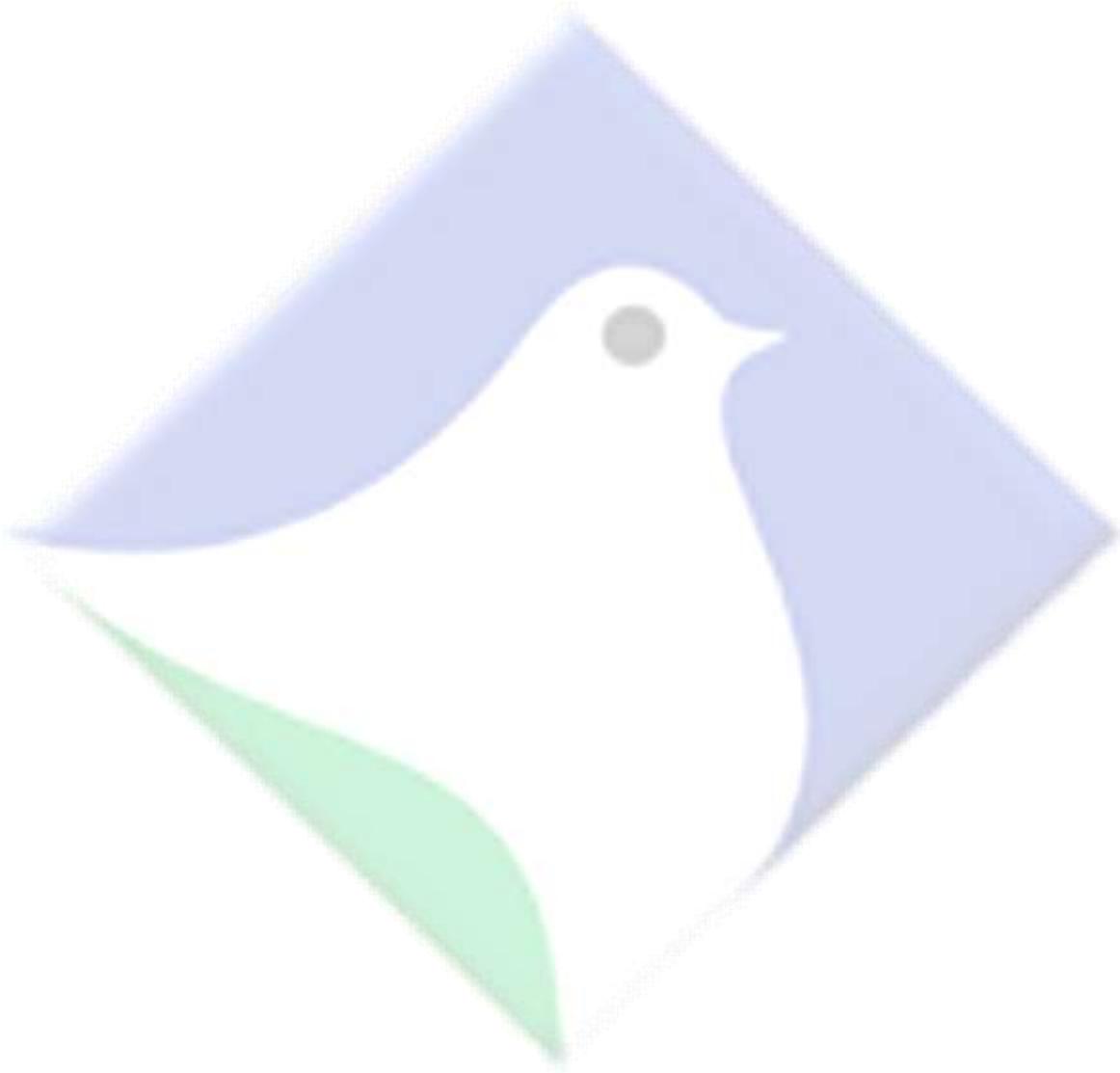
MÓDULO:

BIOPROCESOS

Prof.

Escuela de Ingeniería agroindustrial

Página 16 de 94



	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 17 de 94

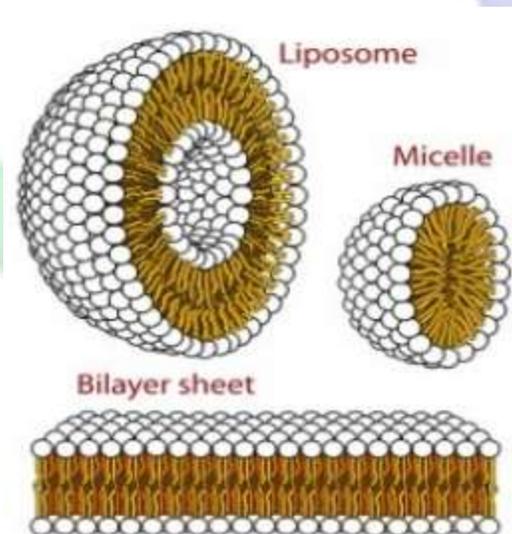
## 4 METABOLISMO

Es el conjunto de procesos y reacciones químicas anabólicas (requieren energía) y catabólicas (liberan energía); por los cuales un microorganismo obtiene la energía y los nutrientes que necesita para vivir y reproducirse. Los microorganismos utilizan numerosos tipos de estrategias metabólicas distintas y las especies pueden a menudo distinguirse en base a estas estrategias. Las características metabólicas específicas de un microorganismo constituyen el principal criterio para determinar su papel ecológico, su responsabilidad en los ciclos biogeoquímicos y su utilidad en los procesos industriales.

### 4.1 METABOLITOS PRIMARIOS

Se producen en el curso de las reacciones metabólicas anabólicas o catabólicas que tiene lugar durante las fases de crecimiento y que contribuyen a la producción de biomasa o energía por las células se producen principalmente en la tropofase o fase de crecimiento.

Figura. Metabolitos primarios



Fuente. Disponible en: <https://www.slideshare.net/IgorVillalta/clase-10-metabolitos-primarios-65950788>

	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 18 de 94

## 4.2 METABOLITOS SECUNDARIOS

Se producen por rutas anabólicas especializadas cuando no hay crecimiento significativo evolutivo controvertido por ser imprescindibles. Pueden ser una estrategia para mantener en funcionamiento los sistemas metabólicos cuando no hay crecimiento; también sirven como indicativos de diferenciación y se producen durante la idiofase de los cultivos. Entre sus características comunes; tienden a producirse cuando el crecimiento está limitado (cultivo continuo); se forman por enzimas específicos a partir del metabolismo central; no son esenciales para el crecimiento o para el metabolismo central y son específicos para cada especie, y a veces, de cada cepa.

## 4.3 CRECIMIENTO MICROBIANO

Crecimiento en términos de masa de bacterias. Se estudia la variación de la masa de microorganismos con el tiempo. Se pueden distinguir cuatro fases.

- **Fase de retardo:** Fase de ambientación. Es más corta que la fase de retardo de acuerdo con número de bacterias la masa de bacterias aumenta antes que se dé la división celular.
- **Fase de crecimiento exponencial:** Siempre existe un exceso de alimento alrededor del microorganismo. La tasa de metabolismo y crecimiento solo es función de la capacidad de los microorganismos de procesar el sustrato.
- **Fase de crecimiento decreciente:** La tasa de crecimiento disminuye por la limitada disponibilidad de alimento.
- **Fase endógena:** Los microorganismos se ven forzados a metabolizar su propio protoplasma sin reposición de este, ya que la concentración de alimento disponible se encuentra al mínimo. Se puede presentar lisis.

Figura curva de crecimiento microbiano



Fuente. Crecimiento, supervivencia y muerte de microorganismos. Disponible en:  
<https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1837&sectionid=128955900&jumpsectionid=128955971>

Hay dos aspectos claramente diferenciales que nos permiten interpretar el crecimiento microbiano:

- Estequiométrico
- Cinético

#### 4.4 CRECIMIENTO ESTEOQUIMÉTRICO

Permite conocer la concentración final de microorganismos a obtener a partir de datos de la composición del medio de cultivo, saber si hay formación de algún producto, etc.

Dada la ecuación de crecimiento microbiano



Para poder conocer la estequiometría del proceso es necesario conocer los coeficientes (S, N, B, X, P, W Y C) para ello se introduce el concepto de:

	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 20 de 94

## Rendimiento

Se define como la cantidad en gramos de producto formado (biomasa, EtOH,  $CO_2$ ,  $H_2O$ , etc) o reactivos consumidos (FN, oxígeno), sobre gramos de fuente de carbono y energía consumida FCE (glucosa, glicerol, etc).

$$Y_{x/s} = -\frac{\Delta X}{\Delta S} \quad \text{o} \quad Y_{p/s} = -\frac{\Delta P}{\Delta S}$$

Si deseamos efectuar cálculos estequiométricos debemos conocer el rendimiento en moles. Se determina que peso de células o biomasa, corresponde a un mol:

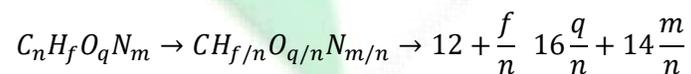
Experimentalmente se obtiene que la composición elemental promedio de un microorganismo es en (%P/P): C = 46,5; H = 6,49; O = 31,0; N = 10,85. De cual podemos definir una formula mínima  $CH_{1,79}O_{0,5}N_{0,2}$  (en la que está representado el 95% p/p de la biomasa y el otro 5% son sales).

Entonces definimos un C-mol de biomasa como la cantidad de biomasa que contiene un átomo gramo de carbono

$$1 \text{ C - mol de biomasa} = \frac{12 + 1,79 + 16 * 0,5 + 14 * 0,2}{0,95} = 25,8g$$

Podemos definir 1 C-mol de FCE:

1 C-mol de glucosa ( $C_6H_{12}O_6$  está representado por  $CH_2O$  y pesará 30 g. en general para obtener los gramos de 1 C-mol de un compuesto se tiene:



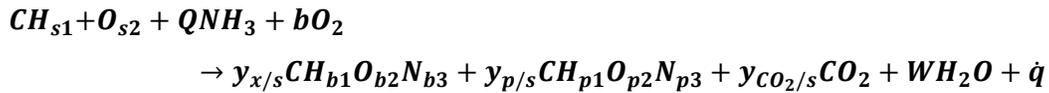
$$y_{x/s} = Y_{x/s} \frac{\sigma x}{\sigma s}$$

Donde:

$\sigma x$  y  $\sigma s$  : Tiene unidades de cmol/g de x y s

	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 21 de 94

Balance de materia:



Balance por componentes:

**Carbono:** puesto que los rendimientos están referidos a 1 C-mol de fuente de carbono y energía, resulta

$$y_{x/s} + y_{p/s} + y_{CO_2/s}$$

Nitrogeno:

$$Q = b_3 y_{x/s} + p_3 y_{p/s} = y_{N/s}$$

#### 4.5 CINÉTICA DE CRECIMIENTO MICROBIANO

Su manejo permite controlar las características del medio ambiente necesario para el crecimiento celular. Para que los organismos crezcan, se requiere que permanezcan un tiempo suficiente en el sistema para que se reproduzcan y se analiza su tasa de crecimiento y la velocidad a la que metabolizan. Esto es válido para sistemas de cultivo continuo o discontinuo.

$$r_g = \mu X$$

Donde:

$r_g$ : Tasa de crecimiento bacteriano, masa/volumen unitario<sup>-1</sup>.

$\mu$ : Tasa de crecimiento específico, tiempo<sup>-1</sup>.

$X$ : Concentración de microorganismos, masa/volumen.

Para cultivos de alimentación discontinua:

$$\frac{dX}{dt} = \mu X$$

#### Crecimiento con limitación de sustrato

Si en cultivos de alimentación discontinua se presentan cantidades limitadas de un sustrato o nutrientes, este se agotará primero y se detendrá el crecimiento. En un cultivo continuo, el anterior hecho tiene el efecto de limitar el crecimiento.

	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 22 de 94

$$\mu = \mu_m \frac{S}{K_s + S}$$

Donde:

$\mu_m$ : Máxima tasa de crecimiento específico, *tiempo*<sup>-1</sup>.

S: Concentración de sustrato limitante del crecimiento, masa/volumen.

$K_s$ : Constante de velocidad mitad, concentración de sustrato a la mitad de la máxima tasa de crecimiento, masa/volumen.

### Crecimiento celular y utilización del sustrato

En los sistemas de cultivo de alimentación continua y discontinua, una parte del sustrato se transforma en células nueva, y otra parte se oxida y forma productos finales orgánicos e inorgánicos. Se ha observado que la cantidad de células nuevas producidas es la misma para un sustrato dado.

$$r_g = -Y r_{Su}$$

Donde:

Y: Coeficiente de producción máxima medido durante cualquier periodo finito de la fase de crecimiento exponencial, definido como la relación entre la masa de células formadas y la masa de sustrato consumido, *masa/masa*.

$r_{Su}$ : Tasa de utilización del sustrato, masa/volumen \* tiempo.

### 4.6 MICROORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS

Pueden definirse como organismos en los cuales el material genético (ADN) ha sido alterado de un modo artificial. La tecnología generalmente se denomina "biotecnología moderna" o "tecnología genética", en ocasiones también "tecnología de ADN recombinante" o "ingeniería genética". Ésta permite transferir genes seleccionados individuales de un organismo a otro, también entre especies no relacionadas. Dichos métodos se utilizan para crear vegetales GM – que luego se utilizan para desarrollar cultivos de alimentos GM.

	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 23 de 94

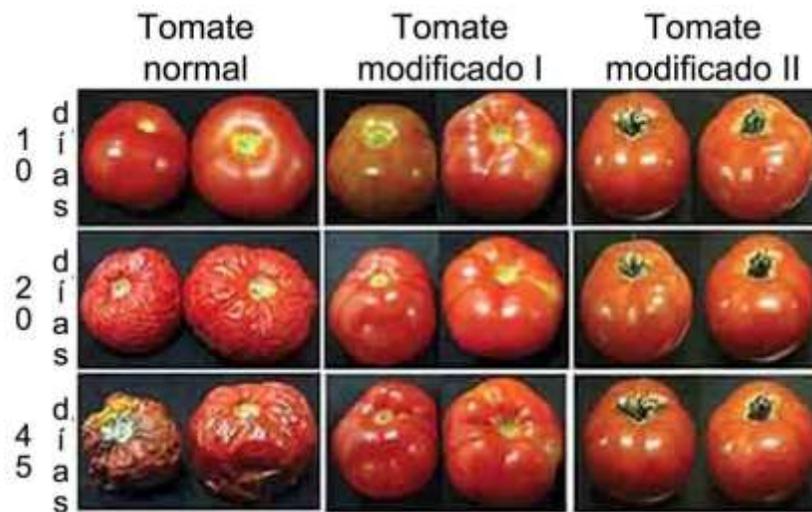
#### 4.7 ALIMENTOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS (GM)

Los alimentos GM se desarrollan y comercializan porque se percibe cierta ventaja tanto para los productores como para los consumidores de estos alimentos. Esto tiene como objetivo traducirse en un producto con un menor precio, mayores beneficios (en términos de durabilidad o valor nutricional) o ambos. En un principio, los individuos que desarrollaban semillas GM deseaban que sus productos fueran aceptados por los productores, por lo tanto, se concentraron en innovaciones que los agricultores (y la industria alimentaria en general) pudieran apreciar. El objetivo inicial del desarrollo de vegetales sobre la base de organismos GM fue aumentar la protección de los cultivos. Los cultivos GM actualmente en el mercado tienen como objetivo principal aumentar el nivel de protección de los cultivos mediante la introducción de resistencia a enfermedades causadas por insectos o virus a los vegetales o mediante una mayor tolerancia a los herbicidas.

La resistencia a los insectos se logra incorporando a la planta alimenticia el gen productor de toxinas de la bacteria *Bacillus thuringiensis* (BT). Estatoxina se usa actualmente como un insecticida convencional en la agricultura y es inocua para el consumo humano. Se ha demostrado que los cultivos GM que producen esta toxina en forma permanente requieren menores cantidades de insecticidas en situaciones específicas, por ejemplo, donde la presión de plagas es elevada.

La resistencia viral se logra mediante la introducción de un gen de ciertos virus que causan enfermedad en los vegetales. La resistencia viral reduce la susceptibilidad de los vegetales a enfermedades causadas por dichos virus, lo que da como resultado un rendimiento mayor de los cultivos.

La tolerancia a herbicidas se logra mediante la introducción de un gen de una bacteria que les confiere resistencia a ciertos herbicidas. En situaciones donde la presión de la maleza es elevada, el uso de dichos cultivos ha producido una reducción en la cantidad de herbicidas utilizados.

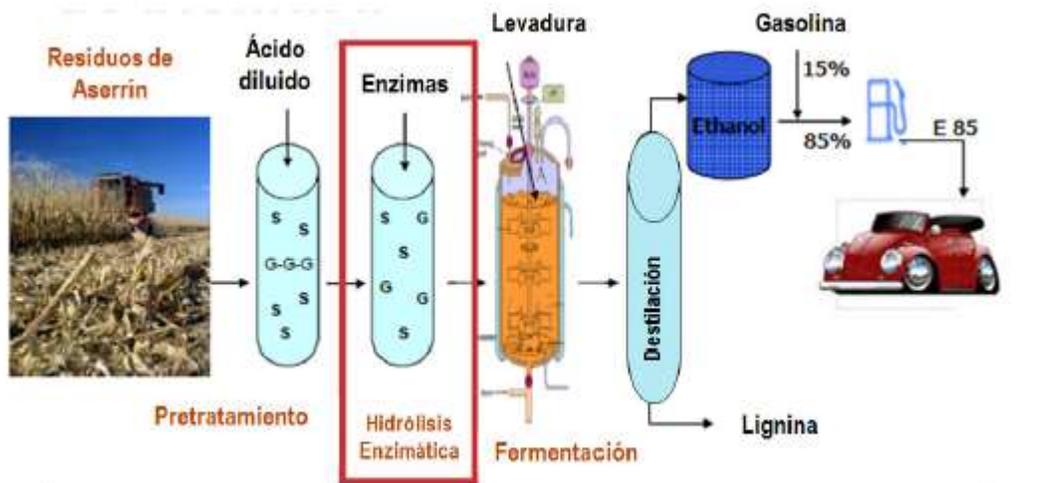


Fuente. Organismos genéticamente modificados. Disponible en:  
[https://www.ecured.cu/Organismos\\_geneticamente\\_modificados](https://www.ecured.cu/Organismos_geneticamente_modificados)

## 5 TECNOLOGÍA ENZIMÁTICA

La tecnología enzimática tiene como objetivo la superación de todos aquellos inconvenientes que parecen retrasar la aplicación de las enzimas en procesos a escala industrial. Las enzimas son proteínas cuya función biológica es catalizar las reacciones que suceden en las células. Esta área tiene aplicaciones desde tiempos remotos como la fermentación, actualmente en diferentes industrias a diferentes niveles, ya que implica la utilización de sistemas enzimáticos diversos que optimizan el procesamiento en la obtención de detergente, aditivos alimenticios, productos químicos y farmacéuticos. La tecnología enzimática se presenta como alternativa biotecnológica basada en que las industrias desarrollen productos de calidad homogénea, aprovechen óptimamente sus materias primas, aceleren sus procesos de producción, minimicen desperdicios y disminuyan el deterioro del medio ambiente.

Figura. Diagrama general de producción de bioetanol a partir de materiales lignocelulósicos



Fuente. Pretratamiento etanolsoiv con  $\text{FeCl}_3$  y  $\text{AlCl}_3$  para incremento de hidrólisis enzimática de aserrín de pino.

A mediados de los años 50, la tecnología de las enzimas vivió su época de gran esplendor, creciendo a un ritmo desenfrenado. El progreso de la bioquímica ha derivado en una mejor comprensión de la gran variedad de enzimas presentes en las células vivas, así como un mejor conocimiento acerca de su modo de acción. Por ejemplo, su eficacia se puede

	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 26 de 94

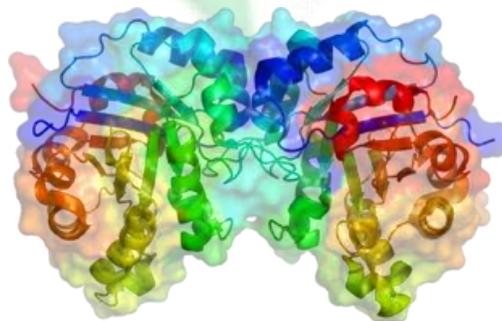
aumentar extrayéndolas de los microorganismos y manteniéndolas aisladas. Las enzimas purificadas a través de este sistema no pierden sus propiedades; al contrario, estas preparaciones "sin células" devienen incluso más eficaces.

A comienzos de 1970 la tecnología enzimática comenzaba a entrar en periodo de desarrollo industrial, dirigido a la producción de aminoácidos y azúcares a partir de glucosa isomerizada. En aquel momento, los mercados Europeos y Americanos se encontraban dominados por la comercialización de las enzimas proteolíticas utilizadas en la industria de los detergentes, pero existían grandes expectativas sobre el mercado de enzimas aplicadas a la industria alimentaria, al cual se le auguraba un crecimiento importante. Actualmente se ha visto que puede utilizarse diversos tejidos vegetales y homogenizados tisulares, obtenidos de distintas fuentes, como alternativas a las células microbianas y a las enzimas purificadas.

### 5.1 ENZIMAS COMO CATALIZADORES

Las enzimas son catalizadores de origen biológico que parecen cumplir muchos de los requisitos necesarios para impulsar esta nueva industria química. Son catalizadores muy activos en medios acuosos y en condiciones muy suaves de temperatura, presión, pH, etc. Son catalizadores muy específicos: pueden modificar un único substrato en una mezcla de substratos muy similares e incluso pueden discernir entre dos isómeros de una mezcla racémica de un compuesto quiral, Son catalizadores muy selectivos: pueden modificar un único enlace o un único grupo funcional en una molécula que tenga varias posiciones modificables.

Figura. Enzima



	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 27 de 94

Fuente. Infobiología. Disponible en: <https://www.infobiologia.net/2012/11/la-enzima-en-la-reaccion-metabolica.html>

## 5.2 CINÉTICA ENZIMÁTICA

La cinética enzimática estudia la velocidad de las reacciones químicas que son catalizadas por las enzimas. El estudio de la cinética y de la dinámica química de una enzima permite explicar los detalles de su mecanismo catalítico, su papel en el metabolismo, cómo es controlada su actividad en la célula y cómo puede ser inhibida su actividad por fármacos, venenos o potenciada por otro tipo de moléculas.

Los modelos enzimáticos parten de medir la concentración de sustrato y velocidad inicial de reacción al inicio de la reacción, puesto que aquí los cambios en la concentración de sustrato son mínimos y pueden considerarse como concentración constante (a los primeros 60 segundos de reacción).

Suposiciones:

1. Se mide la velocidad como velocidad inicial ( $V_0$ ).
2. El sustrato se encuentra en gran exceso comparado con la enzima.
3. Las condiciones de reacción ocurren bajo estado estacionario.

### Reacciones químicas

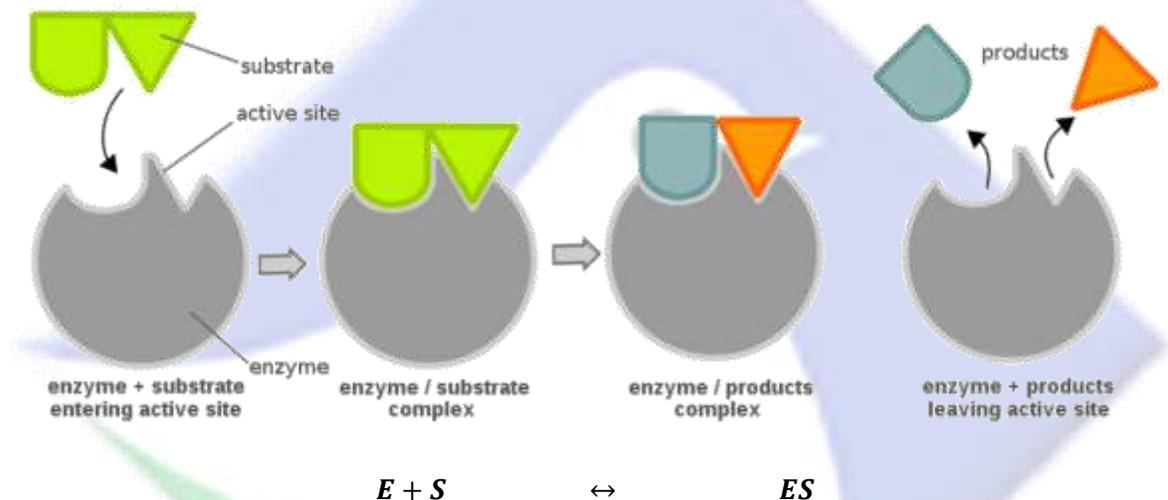
- Siguen la tendencia universal de moverse hacia baja energía.
- Tienen una barrera que hay que vencer. La catálisis lo que busca es reducir la magnitud de esa barrera.
- Un equilibrio como SP, viene descrito por una constante de equilibrio,  $K_{eq}$  ó simplemente K.
- La velocidad de reacción viene dada por la concentración de reactivo (o reactivos) y por la constante de velocidad K, es decir:  $V = K[S]$  para la reacción de S a P anterior, la cual es una reacción de primer orden pues solo depende la concentración de S. K tendría unidades de  $S^{-1}$ .
- “Si una velocidad de reacción depende de la concentración de dos compuestos diferentes o de dos moléculas del mismo compuesto, la reacción es de segundo

orden y K es una constante de velocidad de segundo orden con unidades  $M^{-1} S^{-1}$ ,  
 $V=K[S_1][S_2]$

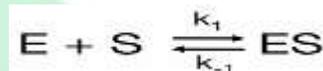
- “El factor K es una constante de proporcionalidad que refleja la probabilidad de reacción bajo condiciones de pH, T°, etc”

### Estados de la reacción enzimática

La enzima se une al sustrato para formar un complejo enzima-sustrato, en una reacción reversible. Este paso es relativamente rápido.

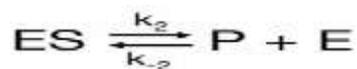


Esta reacción tiene constantes de  $K_1$  para la reacción hacia la derecha y  $K_{-1}$  para la reacción reversible.



El complejo ES se descompone en un segundo paso más lento. Dando P + E.

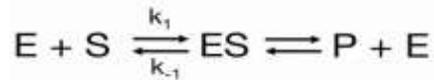
Esta segunda etapa es la etapa limitante de la reacción y por lo tanto limita la velocidad de reacción. Dicha velocidad de reacción debe ser proporcional a la concentración de la especie que reacciona en el segundo paso, es decir ES. Luego  $V_0 = k_2 * [ES]$ .



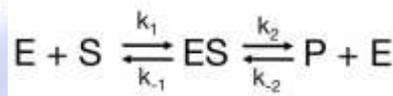
	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 29 de 94

Dado que [ES] de la anterior ecuación no se puede medir experimentalmente con facilidad, se empieza a encontrar una expresión alternativa para ese término; lo que lleva a la ecuación de Michaelis Menten en términos de  $V_{m\acute{a}x}$ , [S],  $K_m$ .

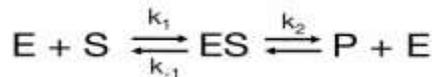
El sustrato en la enzima es convertido al producto, y tenemos la liberación del producto y la enzima.



También es una reacción reversible con constantes  $K_2$  y  $K_2$ .



En el último paso, en teoría la reacción es reversible. Para estudiar la cinética enzimática, el estudio se realiza en las etapas o fases tempranas de la reacción. Y en esta etapa hay muy bajas concentraciones del producto. Luego podemos considerar que la constante  $K_2$  se puede obviar, e ignorar la segunda reacción reversible. El segundo estado de la reacción es irreversible.

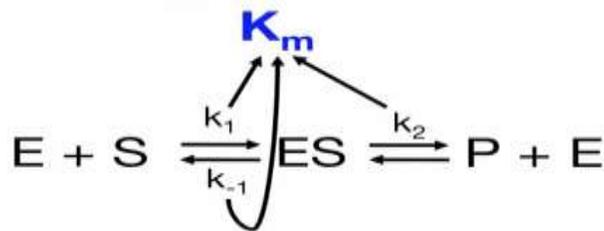


### 5.3 MODELO CINÉTICO DE MICHAELIS-MENTEN

Los estudios sistemáticos del efecto de la concentración inicial del sustrato sobre la actividad enzimática comenzaron a realizarse a finales del siglo XIX. Ya en 1882 se introdujo el concepto del complejo enzima-sustrato como intermediario del proceso de catálisis enzimática. En 1913, **Leonor Michaelis** (foto de la izquierda) y **Maud Menten** (foto de la derecha) **desarrollaron esta teoría** y propusieron una ecuación de velocidad que explica el comportamiento cinético de los enzimas

Para explicar la relación observada entre la velocidad inicial ( $v_0$ ) y la concentración inicial de sustrato ( $[S]_0$ ) Michaelis y Menten propusieron que las reacciones catalizadas enzimáticamente ocurren **en dos etapas**: En la primera etapa **se forma el complejo enzima-sustrato** y en la segunda, el complejo enzima-sustrato da lugar a la **formación del producto**, liberando el enzima libre:

	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 30 de 94



En este esquema,  $k_1$ ,  $k_2$  y  $k_3$  son las constantes cinéticas individuales de cada proceso y también reciben el nombre de **constantes microscópicas de velocidad**. Según esto, podemos afirmar que:

$$v_1 = k_1 [E] [S]$$

$$v_2 = k_2 [ES]$$

$$v_3 = k_3 [ES]$$

Se puede distinguir entre **enzima libre** (E) y **enzima unido al sustrato** (ES), de forma que la **concentración total de enzima**,  $[E_T]$ , (que es constante a lo largo de la reacción) es:

$$[E_T] = [E] + [ES]$$

Como  $[E] = [E_T] - [ES]$ , resulta que:  $v_1 = k_1 [S] [E_T] - k_1 [S] [ES]$

Este modelo cinético adopta la **hipótesis del estado estacionario**, según la cual la concentración del complejo enzima-sustrato es pequeña y constante a lo largo de la reacción (Figura de la derecha). Por tanto, la velocidad de formación del complejo enzima-sustrato ( $v_1$ ) es igual a la de su disociación ( $v_2 + v_3$ ):

$$v_1 = v_2 + v_3$$

Además, como  $[ES]$  es constante, la velocidad de formación de los productos es constante:

$$v = v_2 = v_3 = k_3 [ES] = \text{constante.}$$

Como  $v_1 = v_2 + v_3$ , podemos decir que:

$$k_1 [S] [E_T] - k_1 [S] [ES] = k_2 [ES] + k_3 [ES]$$

Despejando  $[ES]$ , queda que:

$$[ES] = \frac{[E_T][S]}{K_m + [S]}$$

Siendo  $K_m = (k_2 + k_3)/k_1$ , en donde la expresión  $(k_2+k_3)/k_1$  se ha sustituido por  $K_M$ , o constante de Michaelis-Menten. Este enlace nos aporta una explicación sobre las razones que hacen de la  $K_M$  un parámetro cinético importante.

Por lo tanto, en el estado estacionario, la velocidad de formación del producto es:

	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 31 de 94

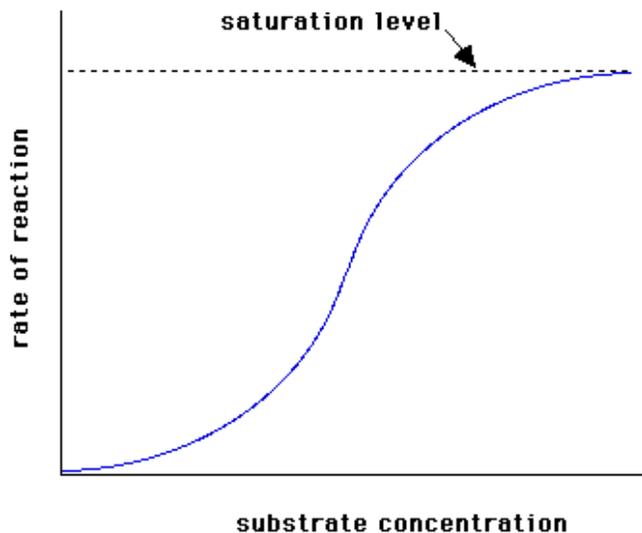
$$v = v_3 = k_3 [ES] = \frac{k_3 [E_T][S]}{K_m + [S]}$$

Para cualquier reacción enzimática,  $[E_T]$ ,  $k_3$  y  $K_M$  son constantes. Vamos a considerar dos casos extremos:

- A concentraciones de sustrato pequeñas ( $[S] \ll K_M$ )  $v = (k_3 [E_T]/K_M) [S]$ . Como los términos entre paréntesis son constantes, pueden englobarse en una nueva constante,  $k_{obs}$ , de forma que la expresión queda reducida a:  $v = k_{obs} [S]$ , con lo cual la reacción es un proceso cinético de primer orden.
- A concentraciones de sustrato elevadas ( $[S] \gg K_M$ ),  $v = k_3 [E_T]$ . La velocidad de reacción es independiente de la concentración del sustrato, y por tanto, la reacción es un proceso cinético de orden cero. Además, tanto  $k_3$  como  $[E_T]$  son constantes, y nos permite definir un nuevo parámetro, la velocidad máxima de la reacción ( $V_{max}$ ):  $V_{max} = k_3 [E_T]$ , que es la velocidad que se alcanzaría cuando todo el enzima disponible se encuentra unido al sustrato.

Si introducimos el parámetro  $V_{max}$  en la ecuación general de la velocidad, (la fórmula recuadrada anteriormente), obtenemos **la expresión más conocida de la ecuación de Michaelis-Menten:**

$$v = \frac{V_{max} \cdot [S]}{K_M + [S]}$$



Hay enzimas que no obedecen la ecuación de Michaelis-Menten. Se dice que su cinética no es Michaeliana. Esto ocurre con los **enzimas alostéricos**, cuya gráfica  $v$  frente a  $[S]$  no es una hipérbola, sino una sigmoide (Figura). En la **cinética sigmoidea**, pequeñas variaciones en la  $[S]$  en una zona crítica (cerca a la  $K_M$ ) se traduce en grandes variaciones en la velocidad de reacción.

	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 32 de 94

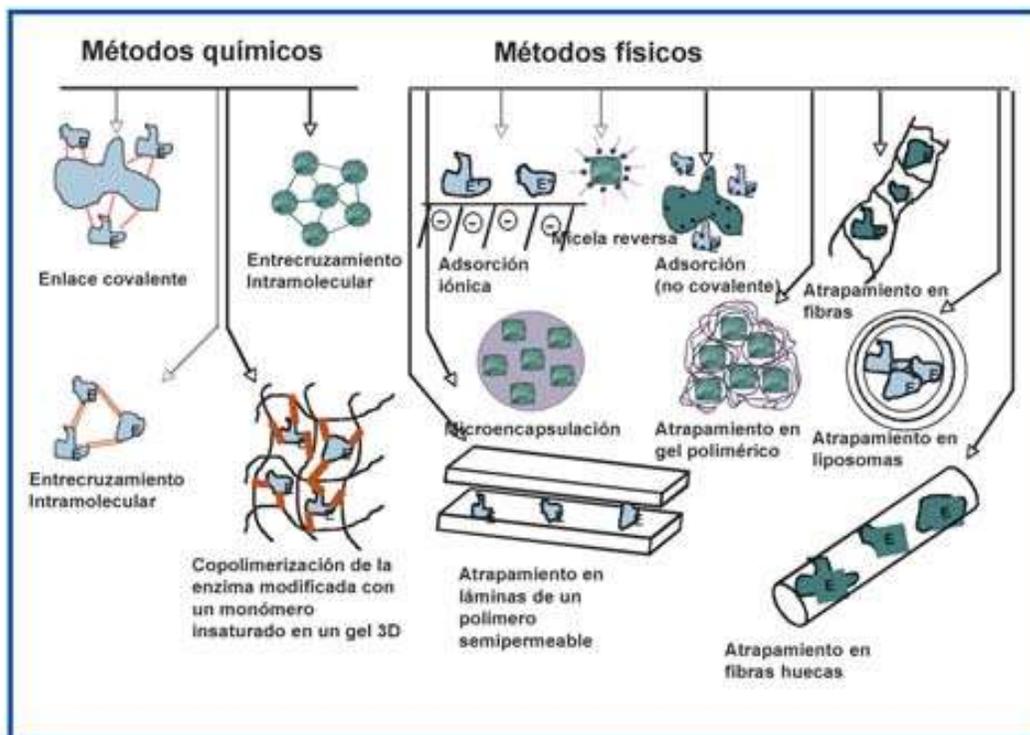
#### **5.4 INMOVILIZACIÓN DE CÉLULAS Y ENZIMAS**

El término inmovilización de células y enzimas se refiere a células y enzimas físicamente confinadas o localizadas en una cierta región definida en el espacio reteniendo sus propiedades y actividades catalíticas. Asimismo, dependiendo del tipo de inmovilización tanto las células como las enzimas pueden ser inmovilizadas de forma permanente o temporal para ser utilizadas repetida y continuamente en diversos procesos químicos.

##### **Inmovilización de células**

La investigación sobre inmovilización de organismos unicelulares ha generado gran interés en la comunidad científica, debido a sus grandes ventajas técnicas y económicas respecto a la fermentación tradicional. Entre las principales ventajas que presentan los sistemas biotecnológicos que utilizan células inmovilizadas se encuentra su facilidad para el manejo de una mayor densidad celular comparado con los procesos tradicionales, un mejor control en sistemas continuos y la posible recuperación de la biomasa para su posterior reutilización.

Figura. Métodos físicos y químicos de inmovilización.



Fuente. Disponible en: [https://www.researchgate.net/figure/FIGURA-1-Metodos-de-inmovilizacion-de-enzimas-y-celulas\\_fig1\\_39482094](https://www.researchgate.net/figure/FIGURA-1-Metodos-de-inmovilizacion-de-enzimas-y-celulas_fig1_39482094)

## Inmovilización de enzimas

En la actualidad, la industria requiere gran cantidad de enzimas con el fin de obtener productos con mejores características y menor costo. Por ello, la implementación de procedimientos que aumenten la estabilidad de las enzimas y permitan su reutilización ha sido por muchos años el objetivo de diversos laboratorios alrededor del mundo.

La inmovilización combina la actividad elevada y específica de las biomoléculas activas, como las enzimas o anticuerpos, con la estabilidad química y mecánica del soporte. Consiste en mantener la biomolécula unida o atrapada en un soporte físico, conservando su actividad catalítica y permitiendo el flujo de sustratos y productos. Las enzimas pueden ser inmovilizadas en sustratos naturales y/o sintéticos por medios químicos (uniéndolas al sustrato mediante enlaces covalentes) o físicos (fuerzas electrostáticas o membranas), y

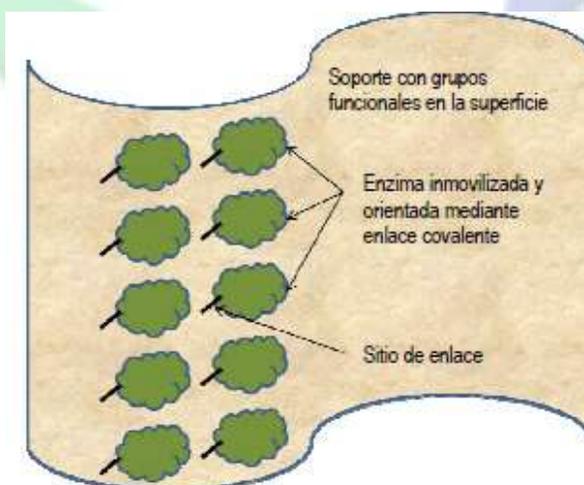
	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 34 de 94

pueden además ser encapsuladas mecánicamente la adición de agentes que formen una película protectora alrededor de la enzima inmovilizada, permitiendo el paso de reactivos y productos de pequeño tamaño, pero no de proteínas.

### Métodos de inmovilización irreversible

Formación de enlaces covalentes: La inmovilización de proteínas por métodos basados en la formación de enlaces covalentes están entre los más usados. La ventaja de estos métodos estriba en la naturaleza estable de los enlaces formados entre las enzimas y el soporte. De igual manera, las enzimas en este método no son liberadas en la solución en uso. Sin embargo, para lograr altos niveles de enlace, los residuos de aminoácidos esenciales para la actividad catalítica no deben involucrar un enlace covalente con el soporte, aunque esto puede resultar difícil de lograr en algunos casos. Los métodos covalentes de inmovilización son empleados cuando existe un requerimiento estricto de ausencia de enzimas en el producto. En este método se enlaza covalentemente la enzima con un soporte insoluble natural o sintético. El enlace se da entre algún grupo funcional reactivo de la enzima (amino, Cis-tiol, Tir-hidroxil o His-imidazol) y el soporte previamente activado, generalmente recubierto con grupos funcionales orgánicos en la superficie (Monocapas tiol autoensambladas, oro, CNBr-Sepharosa, etc.)

Figura. Enzimas inmovilizadas en un soporte físico por enlace covalente



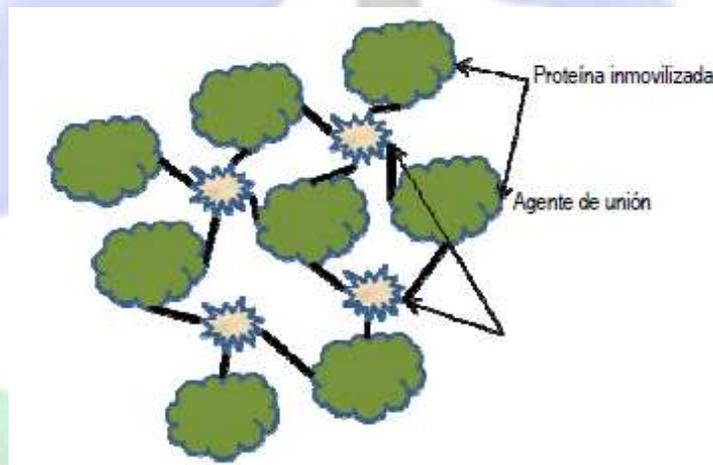
	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 35 de 94

Fuente. Disponible en:

<http://www.posgradoeinvestigacion.uadec.mx/AQM/No.%206/5.html>

Formación de enlaces cruzados: Con esta técnica los soportes no son necesarios, ya que la inmovilización se da por un enlace directo entre enzimas, que puede ser mediado o no por un agente de unión. Generalmente se añade el agente de bajo peso molecular (ej. glutaraldehído) a la enzima en solución, uniendo covalentemente los grupos funcionales de las enzimas para formar agregados. Este método tiene como ventaja su sencillez, sin embargo, es susceptible a cambios pequeños de pH y temperatura en las condiciones de operación.

Figura. Enzimas inmovilizadas por enlaces cruzados



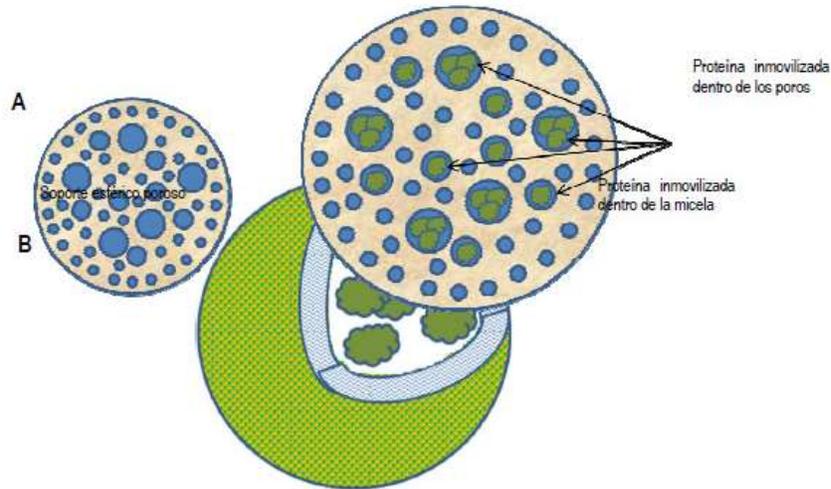
Fuente. Disponible en:

<http://www.posgradoeinvestigacion.uadec.mx/AQM/No.%206/5.html>

Atrapamiento por micro-encapsulación: El método puede ser de dos tipos: por microencapsulación en soportes porosos (con un diámetro de 2-50 nm), que posteriormente pueden ser recubiertos con un revestimiento nanocompuesto, atrapan la enzima en su interior y permiten el paso de sustratos y productos; por microemulsión o liposomas, combinando la enzima con agentes emulsificantes y agitando para formar micelas que la protegen de medios ácidos/alcalinos, proteasas y durante los periodos de almacenamiento.

	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 36 de 94

Figura. Enzimas inmovilizadas por encapsulación



Fuente. Disponible en:

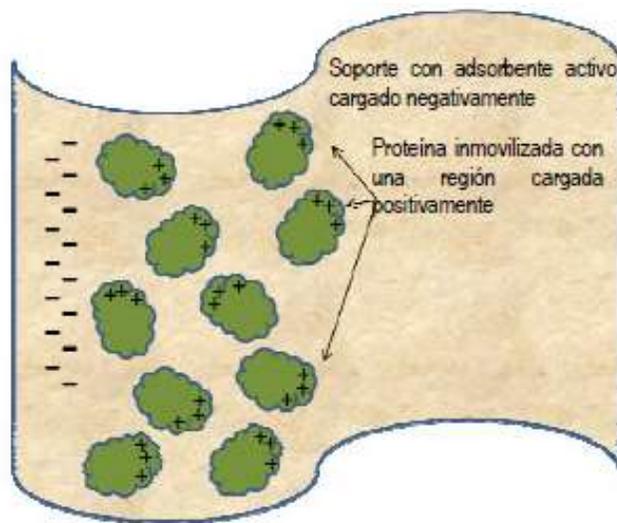
<http://www.posgradoeinvestigacion.uadec.mx/AQM/No.%206/5.html>

### Método de inmovilización reversible

**Por adsorción:** El método de adsorción emplea soportes orgánicos o inorgánicos que presentan un adsorbente activo (monocapastiol auto ensambladas, oro, entre otros) en los cuales, las enzimas son atraídas y retenidas por medio de interacciones iónicas o fuerzas débiles (puentes de hidrógeno, fuerzas de Van der Waals, interacciones hidrofóbicas) (Figura 5) (Wood et al., 1997). Este método consiste en poner en contacto la enzima en solución acuosa con un soporte adsorbente por un lapso de tiempo dado (2-48 h), para después lavar el soporte y eliminar la enzima que no fue inmovilizada. Presenta la ventaja de mantener intacta la actividad de la enzima, ya que la unión es débil y no afecta su conformación, sin embargo, esta característica hace que al mismo tiempo la unión sea reversible y sensible a cambios de pH y temperatura.

 Instituto Universitario de La Paz UNIPAZ	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 37 de 94

Figura. Enzimas inmovilizadas en un soporte físico. Por adsorción, la región positiva de la proteína interactúa con el soporte negativo.



Fuente. Disponible en:

<http://www.posgradoeinvestigacion.uadec.mx/AQM/No.%206/5.html>

## 5.5 ENZIMAS EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA

La utilización empírica de preparaciones enzimáticas en la elaboración de alimentos es muy antigua. El cuajo, por ejemplo, se utiliza en la elaboración de quesos desde la prehistoria, mientras que las civilizaciones precolombinas ya utilizaban el zumo de la papaya. Sin embargo, hasta 1897 no quedó totalmente demostrado que los efectos asociados a ciertos materiales biológicos, como el cuajo o las levaduras pudieran individualizarse en una estructura química definida, llamada enzima, aislable en principio del organismo vivo global.

Desde hace unas décadas se dispone de enzimas relativamente puros y con una gran variedad de actividades susceptibles de utilizarse en la elaboración de alimentos. Los progresos que están realizando actualmente la ingeniería genética y la biotecnología permiten augurar un desarrollo cada vez mayor del uso de los enzimas, al disponer de un suministro continuo de materiales con la actividad deseada a precios razonables.

Los enzimas utilizados dependen de la industria y del tipo de acción que se desee obtener:

	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 38 de 94

## Industrias lácteas

El cuajo del estómago de los rumiantes es un producto clásico en la elaboración de quesos, el cuajo se obtuvo como preparación enzimática relativamente pura solo en 1879. Está formado por la mezcla de dos enzimas digestivas (quimosina y pepsina) y se obtiene del cuajar de las terneras jóvenes. Estos enzimas rompen la caseína de la leche y producen su coagulación. Desde los años sesenta se utilizan también otros enzimas con una acción semejante obtenidos a partir de microorganismos o de vegetales.

Actualmente empieza a ser importante también la lactasa, un enzima que rompe la lactosa, que es el azúcar de la leche. Muchas personas no pueden digerir este azúcar, por lo que la leche les causa trastornos intestinales. Ya se comercializa leche a la que se le ha añadido el enzima para eliminar la lactosa.

Figura. Lactasa

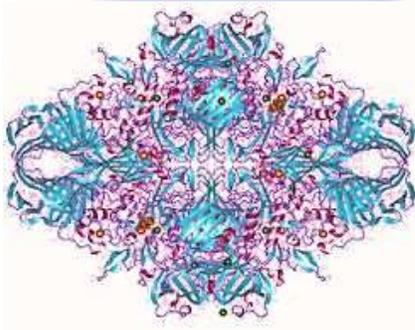


figura. Cuajo en la producción de queso



Fuente. Lactase. Disponible en: <https://en.wikipedia.org/wiki/Lactase>

## Panadería

En panadería se utiliza la lipoxidasa, simultáneamente como blanqueante de la harina y para mejorar su comportamiento en el amasado. La forma en la que se añade es usualmente como harina de soja o de otras leguminosas, que la contienen en abundancia. Para facilitar la acción de la levadura, se añade amilasa, normalmente en forma de harina de malta, aunque en algunos países se utilizan enzimas procedentes de mohos ya que la

	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 39 de 94

adición de malta altera algo el color del pan. La utilización de agentes químicos para el blanqueado de la harina está prohibida en España. A veces se utilizan también proteasas para romper la estructura del gluten y mejorar la plasticidad de la masa. Este tratamiento es importante en la fabricación de bizcochos.

Figura. Enzima lipoxidasa en harina para la fabricación de pan



Fuente. Disponible en <http://vian-ordenarlabiblioteca.blogspot.com/2011/03/no-solo-de-pan-vive-el-hombre-o-una.html>

### **Cervecería**

A principios de este siglo (1911) se patentó la utilización de la papaína para fragmentar las proteínas presentes en la cerveza y evitar que ésta se enturbie durante el almacenamiento o la refrigeración, y este método todavía se sigue utilizando. Este enzima se obtiene de la papaya. Un enzima semejante, la bromelaína, se obtiene de la piña tropical.

Un proceso fundamental de la fabricación de la cerveza, la ruptura del almidón para formar azúcares sencillos que luego serán fermentados por las levaduras, lo realizan las amilasas presentes en la malta, que pueden añadirse procedentes de fuentes externas, aunque lo usual es lo contrario, que la actividad propia de la malta permita transformar aún más almidón del que contiene. Cuando esto es así, las industrias cerveceras añaden almidón de patata o de arroz para aprovechar al máximo la actividad enzimática.

Fabricación de zumos, a veces la pulpa de las frutas hace que los zumos sean turbios y demasiado viscosos, produciéndose también ocasionalmente problemas en la extracción y

	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 40 de 94

en su eventual concentración. Esto es debido a la presencia de pectinas, que pueden destruirse por la acción de enzimas presentes en el propio zumo o bien por enzimas añadidas obtenidas de fuentes externas. Esta destrucción requiere la actuación de varias enzimas distintas, uno de los cuales produce metanol, que es tóxico, aunque la cantidad producida no llegue a ser preocupante para la salud.

Figura. Producción de cerveza



Fuente. <https://elcapitalfinanciero.com/ab-inbev-y-grupo-modelo-alcanzan-acuerdo-con-ee-uu/>

### **Fabricación de glucosa y fructosa a partir del maíz**

Una industria en franca expansión es la obtención de jarabes de glucosa o fructosa a partir de almidón de maíz. Estos jarabes se utilizan en la elaboración de bebidas refrescantes, conservas de frutas, repostería, etc. en lugar del azúcar de caña o de remolacha. La forma antigua de obtener estos jarabes, por hidrólisis del almidón con un ácido, ha sido prácticamente desplazada en los últimos 15 años por la hidrólisis enzimática, que permite obtener un jarabe de glucosa de mucha mayor calidad y a un costo muy competitivo. De hecho, la CE ha limitado severamente la producción de estos jarabes para evitar el hundimiento de la industria azucarera clásica. Los enzimas utilizados son las alfa-amilasas y las amiloglucosidas. La glucosa formada puede transformarse luego en fructosa, otro azúcar más dulce, utilizando el enzima glucosa-someraza, usualmente inmovilizado en un soporte sólido.

	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 41 de 94

Figura. Jarabe de maíz en refrescos



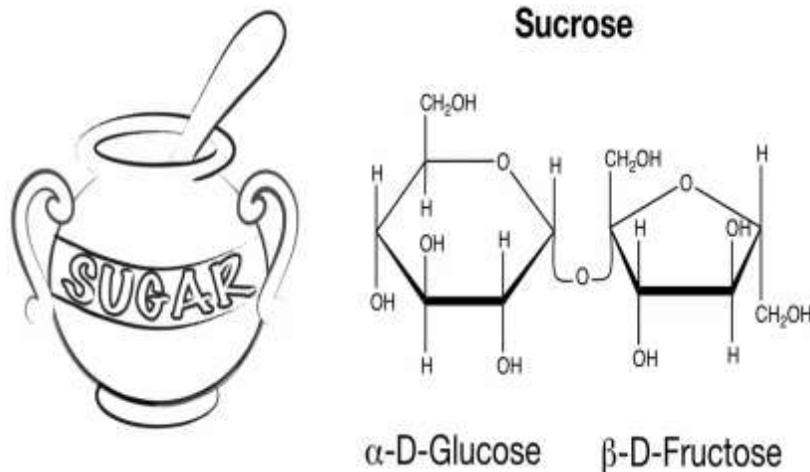
Fuente. <https://nutricionsinmas.com/es-el-jarabe-de-maiz-de-alta-fructosa-peor-que-el-azucar/>

### Refinado de azúcar

La extracción de la sacarosa, a partir de la melaza de la remolacha azucarera puede complicarse por la presencia de rafinosa, un trisacárido que previene la cristalización. Para incrementar la recuperación del azúcar y mejorar el proceso, la rafinosa puede degradarse enzimáticamente. El resultado de esta degradación es doble; por un lado favorece la cristalización y, además, produce sacarosa como uno de los productos de la hidrólisis. La enzima galactosida es producida por el hongo *Mortierella vinaceae raffinosutilizer* y puede ser empleada convenientemente para inmovilizar los residuos micelares que producen este organismo. La reacción hidrolítica se efectúa a pH superior a 5 para evitar la inversión de la sacarosa catalizada por el medio ácido. Algunas veces, se requiere un tratamiento similar en el proceso de obtención a partir de la caña de azúcar, donde el almidón es hidrolizado antes de la cristalización mediante el uso de amilasa.

	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 42 de 94

Figura. Hidrolisis enzimática



Fuente. Metabolitos primarios y secundarios. Disponible en: <https://es.scribd.com/doc/27252775/Metabolitos-Primarios-y-Secundarios>

### Otras aplicaciones

Las enzimas se utilizan en la industria alimentaria de muchas otras formas, en aplicaciones menos importantes que las citadas anteriormente. Por ejemplo, en la fabricación de productos derivados de huevos, las trazas de glucosa presentes, que podrían oscurecerlos, se eliminan con la acción combinada de dos enzimas, la glucosa-oxidasa y la catalasa. Por otra parte, la papaína y bromelaína, enzimas que rompen las proteínas, se pueden utilizar, fundamentalmente durante el cocinado doméstico, para ablandar la carne.

Algunas enzimas, como la lactoperoxidasa, podrían utilizarse en la conservación de productos lácteos.

 Instituto Universitario de La Paz UNIPAZ	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 43 de 94

Figura. Enzimas en lácteos y cárnicos



Fuente. Disponible en: [http://carnicosdelcaribe.com/productos\\_carnicos/#productos](http://carnicosdelcaribe.com/productos_carnicos/#productos)  
BIBLIOGRAFÍA

	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 44 de 94

## 6 BIOTECNOLOGÍA

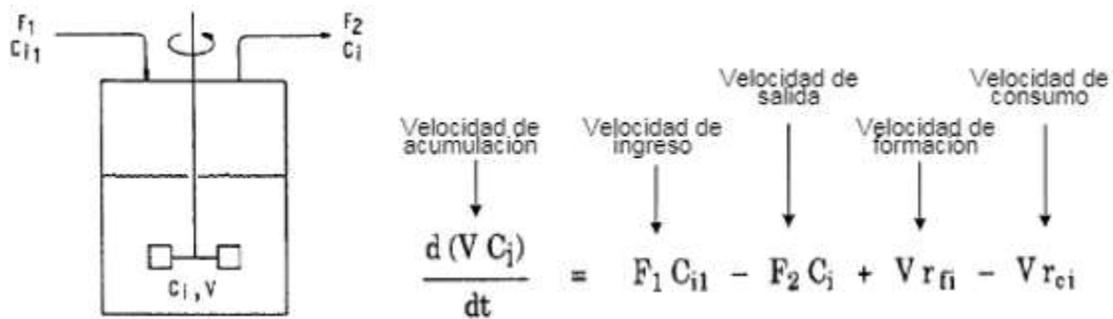
El objetivo de la biotecnología es obtener productos metabólicos útiles a partir de materiales biológicos. La biotecnología comprende dos fases distintas: la fermentación y la recuperación de los productos. Para el cultivo de microorganismos en condiciones óptimas, así como para la producción, por parte de los microorganismos, de los metabolitos o los enzimas deseados, deben ser desarrollados procedimientos de fermentación como son el desarrollo de cepas mediante manipulación genética y/o la regulación del metabolismo mediante la optimización del medio de cultivo, así como el control adecuado de los factores físico-químicos que afectan al rendimiento de las fermentaciones industriales. La recuperación del producto conlleva la extracción y purificación de los productos biológicos.

La recuperación en los procesos bioquímicos difiere de la recuperación química, principalmente, en que los materiales biológicos son frecuentemente mucho más lábiles. Por lo tanto, la producción de productos metabólicos útiles a partir de microorganismos conlleva una íntima relación entre la Ciencia y la Tecnología. Por un lado, se deben desarrollar los microorganismos de interés industrial y por otro se debe asegurar que estos microorganismos puedan crecer en gran cantidad bajo aquellas condiciones que originen el mejor rendimiento posible del producto.

### 6.1 DISEÑO DE MEDIOS DE CULTIVO

Un medio de cultivo es un conjunto de nutrientes, factores de crecimiento y otros componentes que crean las condiciones necesarias para el desarrollo de los microorganismos. La diversidad metabólica de estos es tan grande que la variedad de medios de cultivo es enorme, no existiendo un medio de cultivo universal adecuado para todos ellos, ni siquiera refiriendonos a las bacterias con exclusividad.

El modo de operar el biorreactor puede ser de forma continua o discontinua. Suponiendo mezclado perfecto, tenemos el balance de materia:



**Acumulacion de volumen:** suponiendo que la densidad del cultivo y de la alimentacion son iguales resulta:

$$\frac{dV}{dt} = F_1 - F_2$$

Opera en continuo Si  $F_1 = F_2$  entonces tenemos un cultivo continuo

Opera en discontinuo Si  $F_1 > 0$   $F_2 = 0$  tenemos un cultivo alimentado

Si  $F_1$  y  $F_2 = 0$  tenemos un cultivo Batch

### Cultivo en batch

- Es el cultivo más simple
- Se realiza a volumen constante
- La composición inicial del medio de cultivo determina el curso del cultivo

### Características de un cultivo Batch

1. La duración del cultivo batch depende esencialmente de las condiciones iniciales del cultivo.
2. Una vez inoculado el medio, la concentración de biomasa aumenta a expensas de los nutrientes disponibles.
3. Cuando el sustrato que limita el crecimiento se agota, finaliza el batch.
4. El crecimiento puede cesar también por la acumulación de algún producto toxico. (esto se puede solucionar con un cultivo continuo).

### Diseño de un cultivo batch

En un Batch tenemos que  $F_1 = F_2 = 0$

Por lo que  $\frac{dV}{dt} = F_1 - F_2 \longrightarrow \frac{dV}{dt} = 0 = \text{cte}$

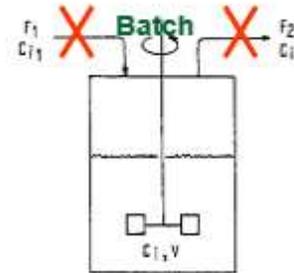
Entonces el balance de materia nos queda

$$\frac{d(V C_i)}{dt} = \cancel{F_1 C_{i1}} - \cancel{F_2 C_i} + V r_{fi} - V r_{ei}$$

Como  $V = \text{cte}$

$$\cancel{V} \frac{d(C_i)}{dt} = V r_{fi} - V r_{ei} = \cancel{V} (r_{fi} - r_{ei}) = r_{fi} - r_{ei}$$

$$\boxed{\frac{d C_i}{dt} = r_{fi} - r_{ei}}$$

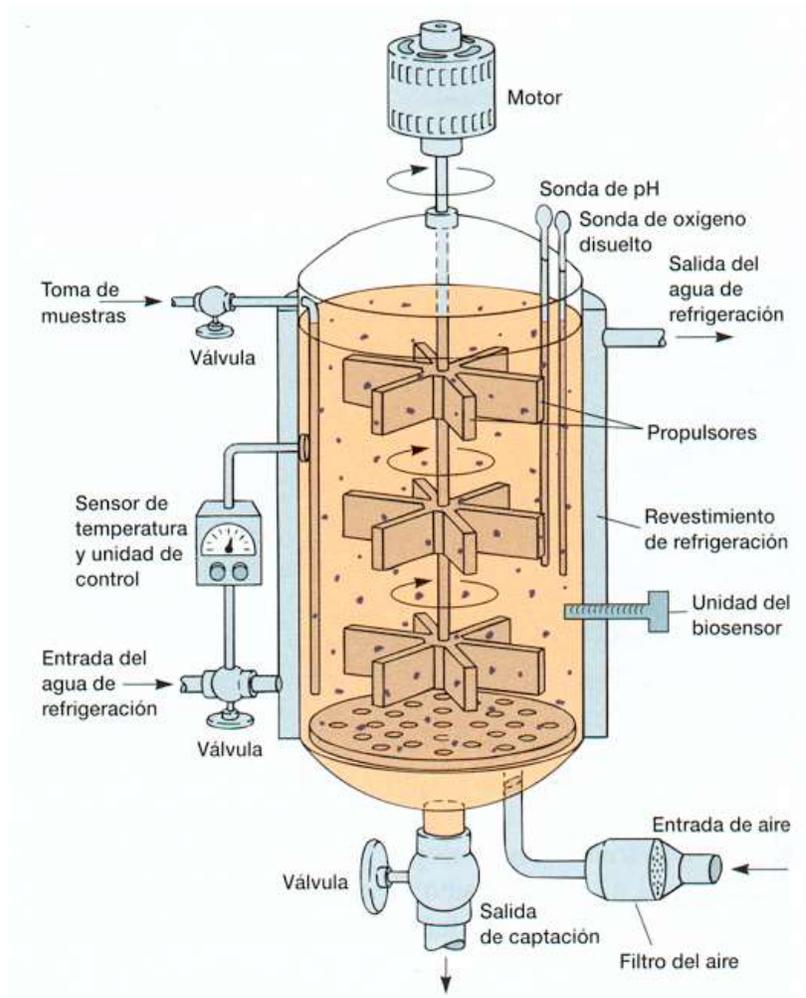


Una fermentación discontinua (en batch) es un "sistema cerrado". Al inicio de la operación se añade la solución esterilizada de nutrientes y se inocula con el microorganismo, permitiendo que se lleve a cabo la incubación en condiciones óptimas de fermentación. En los procesos comerciales la fermentación se interrumpe al final de la fase logarítmica (metabolitos primarios) o antes de que comience la fase de muerte (metabolitos secundarios).

**Positivo.** Es un método clásico. Bien conocido. Instalaciones simples

**Negativo.** Mala utilización de los medios materiales y humanos

Figura. Fermentador discontinuo



### Cultivo continuo

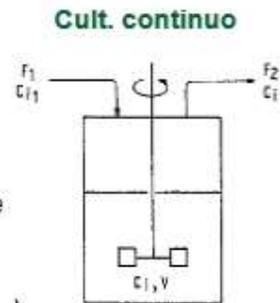
- Permite obtener los parámetros de crecimiento
- Permite realizar estudios fisiológicos.
- Podemos discriminar los efectos de la velocidad de crecimiento  $\mu$ , de la composición del medio de cultivo y del pH y la Temperatura, sobre la fisiología celular del microorganismo.
- Permite realizar estudios de ingeniería metabólica.
- Inestabilidad genética de la cepa en cultivos extendidos (perdida de plásmidos)
- Riesgos de contaminación en cultivos extendidos.

## Diseño de un cultivo continuo

En un C. Continuo tenemos que  $F_1 = F_2 = F$

Por lo que  $\frac{dV}{dt} = F_1 - F_2 \longrightarrow \frac{dV}{dt} = 0 = \text{cte} \quad V = \text{cte}$

El balance de materia nos queda  $V \frac{d(C_j)}{dt} = F(C_{i1} - C_j) + V(r_{fi} - r_c)$



Despejando V  $\frac{d(C_j)}{dt} = \frac{F}{V} (C_{i1} - C_j) + (r_{fi} - r_c)$  Donde  $D = F/V$  y es la velocidad de dilución.

En el estado estacionario  $\frac{d(C_j)}{dt} = 0 \longrightarrow D(C_{i1} - \bar{C}_j) = (r_c - r_{fi})$

En la **fermentación continua** se establece un sistema abierto. La solución nutritiva estéril se añade continuamente al biorreactor y una cantidad equivalente del cultivo, con los microorganismos, se saca simultáneamente del sistema.

**Positivo.** Proceso continuo que permite una buena utilización de los medios materiales y humanos

**Negativo.** Problemas en el mantenimiento de la estabilidad del sistema. Esterilidad.

a.- Muchos sistemas de laboratorio operan continuamente durante solamente 20 a 200 horas; para que sea de utilidad industrial el sistema debe ser estable durante al menos 500 a 1.000 horas.

b.- Mantener las condiciones estériles a escala industrial a lo largo de un largo período de tiempo es difícil.

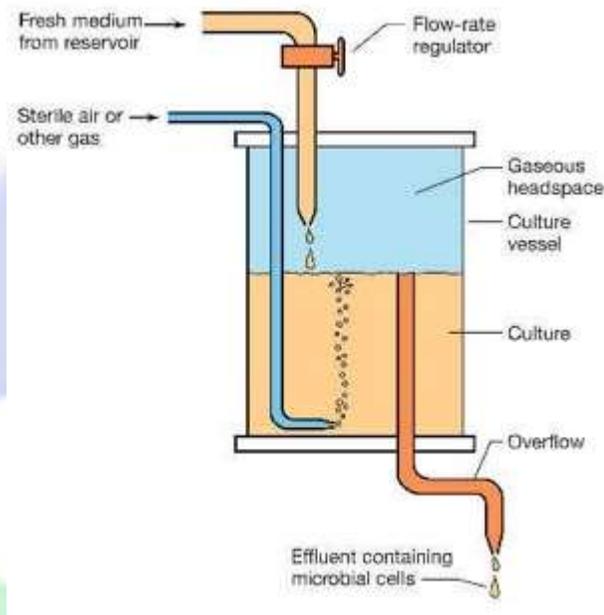
c.- La composición de los sustratos debe ser constante a fin de obtener una producción máxima. La composición de las soluciones de nutrientes industriales son variables (líquido

	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 49 de 94

de maceración del maíz, peptona, etc.) lo que puede originar cambios en la fisiología de la célula y disminuir la productividad.

d.- Cuando se utilizan cepas de alto rendimiento se producen mutantes “degenerados”, los cuales pueden crecer en cultivo continuo más deprisa que las cepas de producción por lo que el rendimiento disminuye con el tiempo ya que cada vez son menos células las que sintetizan el producto de interés.

Figura. Fermentador continuo



Fuente. Disponible en: <https://w3.ual.es/~ifernand/ProcMicro70801207/tema-1---generalidades/1-5-modos-de-cultivo.html>

### Cultivo alimentado (Fed Batch)

En este tipo de cultivos el volumen varía con el tiempo debido a la alimentación esto permite mantener controlada la concentración “Ci” dentro del reactor.

El objetivo de este cultivo

- Al igual que el continuo es evitar la acumulación de productos tóxicos o inhibitorios.
- Controlar la velocidad de crecimiento  $\mu$  de forma constante (alimentado exponencial) o por debajo de cierto valor (alimentado lineal).

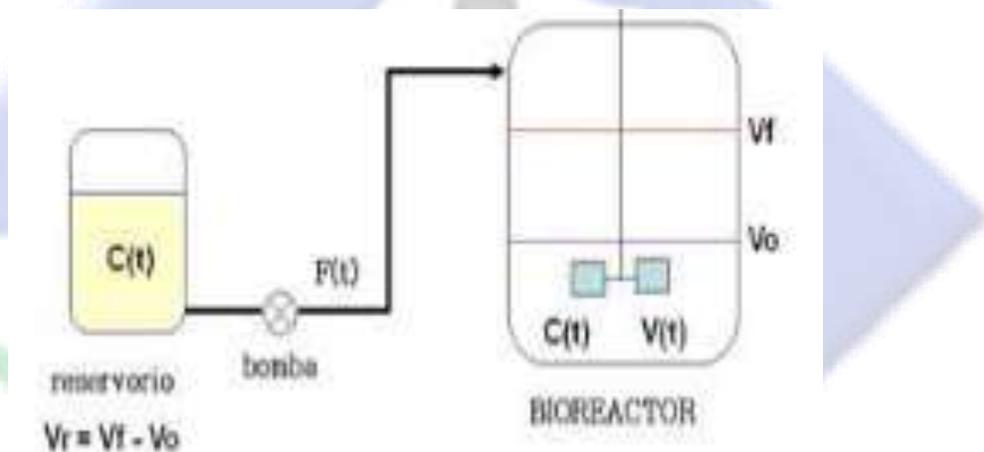
	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 50 de 94

- Incrementar la obtención de productos como intermediarios del metabolismo primario y proteínas recombinantes.
- Maximizar la producción de biomasa o de proteínas unicelulares.

**Fermentación alimentada.** Se considera una mejora del proceso discontinuo, utilizada en la producción de sustancias como la penicilina. En los procesos alimentados, los sustratos se añaden escalonadamente a medida que progresa la fermentación.

La la formación de muchos metabolitos secundarios está sometida a represión catabólica (efecto glucosa). Por esta razón en el método alimentado los elementos críticos de la solución de nutrientes se añaden en pequeñas concentraciones al principio de la fermentación y continúan añadiéndose a pequeñas dosis durante la fase de producción.

Figura. Fermentador Fed Batch



Fuente. <https://docplayer.es/3572224-Introduccion-a-los-bioprosesos.html>

## 6.2 USO DE RESIDUOS AGROINDUSTRIALES

El desarrollo industrial conlleva al incremento en generación de residuos los cuales se han convertido en una problemática tanto ambiental como económica para las empresas ya que éstas se deben responsabilizar de los altos costos que genera su disposición final. Actualmente, la industria busca nuevos procesos de producción que sean más eficientes y que generen bajo impacto en el medio ambiente. Dentro de estos nuevos procesos se ha encontrado la necesidad de disminuir la explotación de los recursos naturales

	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 51 de 94

aprovechando los residuos generados en la industria. Del mismo modo, el aprovechamiento de estos residuos o subproductos, no solo contribuye a disminuir la explotación de recursos sino también la contaminación y degradación del ecosistema, evitando una disposición final inadecuada como es el caso de las quemas, el uso en rellenos sanitarios o el vertimiento a fuentes hídricas.

A continuación se relacionan algunas importantes fuentes de residuos agroindustriales en Colombia, presentando alternativas de subproductos en las que se aprovechan sus características y propiedades para obtener materiales que pueden ser utilizados en diversos procesos.

### **Glicerol**

En la industria del biodiesel como alternativa energética, las grasas animales o aceites vegetales sufren un proceso químico conocido como transesterificación que permite la obtención de esteres metilados y glicerol, estos últimos constituye el 10% de producto secundario en relación a la materia prima.

En la generación de Bioetanol, se ha encontrado que la glicerina es una alternativa viable en contraste con el maíz y la caña de azúcar, porque este requiere menores costos en su procesamiento, genera menores emisiones de gases invernadero en su producción y contiene baja toxicidad al emplear levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*)

Se ha estudiado también la posibilidad de transformar el glicerol en 1,3-propanodiol (1,3-PD), sustancia de múltiples aplicaciones industriales tales como la elaboración de desinfectantes, resinas, limpiadores, cosméticos, películas, adhesivos, detergentes y principalmente en la producción de polímeros por ruta de policondensación como en el caso de poliésteres, poliéteres, polietilenos y poliuretanos, donde se destaca el tereftalato de polimetileno PTT con propiedades de biodegradación, estabilidad en luz U.V, entre otras.

	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 52 de 94

## Residuos de papa en la obtención de hojuelas fritas

En el proceso de industrialización de la papa para la obtención de hojuelas fritas, es común encontrar residuos sólidos y líquidos. Es el caso del almidón remanente, que se encuentra en porcentajes entre el 15,56 - 17,76% puede ser extraído para la obtención de harina a partir de un tratamiento térmico con altas y bajas temperaturas.

## Residuos de café

En la producción de café como bebida solo el 9,5% del peso del fruto es utilizado para su elaboración, quedando un 90,5% de residuos entre los que se destacan las hojas, ramas y tallos que se generan durante la renovación de los cafetales, frutos no adecuados para la producción de café, la pulpa del fruto que representa un 44% del peso del fruto seco y la borra que es el producto de la preparación de café a partir del café tostado y molido, representa el 10% del peso del fruto seco. Investigaciones proponen utilizar los residuos para la producción de biogás, biodiesel, bioetanol y como combustible directo, otra opción es usar los residuos generados de la industrialización del café particularmente la pulpa y el mucílago, para ser empleados en la producción de hongos comestibles, ensilaje y lombricultura.

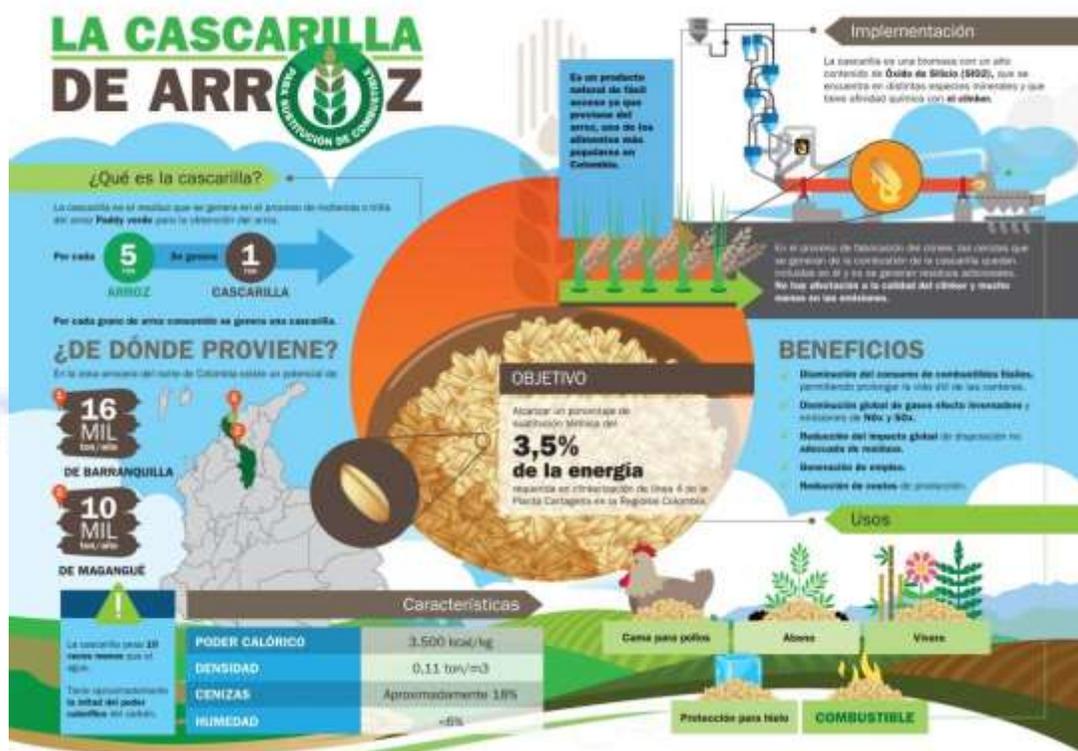
Figura. Residuos de café para producción de biomasa y biocombustibles



Fuente. <https://ecoinventos.com/pellets-de-cafe/>

## Residuos de arroz

Debido a que la cantidad de subproductos del arroz es elevada e industrialmente son poco reutilizados, su aprovechamiento podría enfocarse en la obtención de etanol, la sustitución del uso de carbón para la producción de energía en las plantas de procesamiento, en la adecuación del suelo y como sustrato para los cultivos, o como para la obtención de sílice como material suplementario de cemento, entre otros.



En la Guajira, se han realizado investigaciones en las que se emplean los residuos del arroz como aditivos en la elaboración de bloques de concreto no estructural; lo que permite disminuir el alto consumo energético y emisiones de gases producto de su elaboración.

	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 54 de 94

## Residuos de caña de azúcar y panelera

Los residuos de la caña pueden ser utilizados para la producción de etanol, compost, cobertura del suelo, tableros aglomerados, alimento para animales y la producción de pulpa y papel.

En los últimos años, se ha evidenciado una variante de transcendencia para los residuos de bagazo, consistente en la creación de bioetanol. Este biocombustible se destina principalmente a la mezcla con gasolina, combinación ampliamente utilizada en el país que reduce la dependencia del derivado del petróleo, además de oxigenar el combustible y reducir el nivel de contaminación causada por los gases de efecto invernadero.

Figura. Residuos de caña de azúcar para obtención de biocombustible.



Fuente. <https://plumaslibres.com.mx/2017/06/14/obtendran-combustible-partir-desechos-la-cana-azucar/>

En cuanto a la caña panelera, de ésta se generan alrededor de 44.789 t/año de residuos que de ser aprovechados tendrían un poder energético de 381,6 tJ/año. En el departamento del Meta, estos residuos están siendo utilizados para alimentación de cerdos, ganado y aves por su elevado contenido de azúcares.

	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 55 de 94

## Residuos de maíz

Estos residuos pueden ser utilizados en diferentes procesos como en la obtención de fibra para alimentación animal y producción de etanol o para la cobertura del suelo con el fin de protegerlo de las condiciones ambientales ya implementado en el departamento del Meta. Para la producción de etanol a partir de residuos de maíz, se tiene una eficiencia en procesos de molienda húmeda y molienda en seco superiores al 95% en la recuperación de etanol, con rendimientos de 419,4 L/t y 460,6 L/t de maíz para molienda en seco y 403,1 L/t de maíz para molienda en húmedo.

## Residuos en centrales de abasto

En Corabastos S.A. ubicado en la ciudad de Bogotá, se generan en promedio 2.100 t mensuales de residuos, siendo las verduras el residuo de mayor producción (50%), seguido de las frutas (14%). Se realizó un estudio con el fin de obtener etanol a partir de los residuos generados en esta central de abastos, empleando para ello dos métodos de obtención: hidrólisis ácida y fermentación, Teniendo en cuenta que en Corabastos diariamente se generan alrededor de 70 t diarias de residuos, se concluyó que mediante hidrólisis acida se obtienen 3.325 L de etanol diarios, lo que hace factible su producción permitiendo eliminar o disminuir el costo en el que se incurre para el manejo de los residuos

Figura. Residuos centrales de abastos



	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 56 de 94

Fuente. <http://elheraldoslp.com.mx/2017/10/08/criminal-desperdicio-de-alimentos-en-abastos/>

En la plaza de mercado de Manizales, Caldas, lograron establecer condiciones de temperatura, pH y dosificación enzimática para transformar polisacáridos de los residuos, en azúcares reductores y finalmente obtención etanol.

### **Residuos de frutas**

Se estima que, en la industria de cítricos mundial, se producen más de 120 millones t, de las cuales el 40% es utilizado para la extracción de menos de la mitad del peso del fruto como zumo, quedando como residuos la piel o cáscara, las semillas y la pulpa. Los cítricos tienen componentes muy similares y sus residuos están compuestos generalmente de agua, azúcares, pectina, fibra, ácidos orgánicos, aminoácidos, minerales, aceites esenciales, flavonoides y vitamina; los cuales, si son recuperados de manera adecuada, brindarían valor agregado a la producción de estas frutas.

Naranja: lograron extraer dextrano de la sacarosa de residuos de naranja. Este compuesto con diversos usos médicos es industrialmente obtenido a partir de sacarosa comercial y la cepa B-512F de *Leuconostoc mesenteroides*.

Mango: los desechos del despulpado de mango común (*Mangifera indica* L) constituyen una material apto para obtener metabolitos fermentables y posterior obtención de etanol de acuerdo a resultados obtenidos por Mejía et al. (2007) quienes también encontraron posibilidad de obtener otro tipo de productos por vía fermentativa, gracias al alto contenido de carbohidratos (15,44% en base seca) y 7,03 % de contenido proteico (en base seca) siendo así un material favorable en procesos de fermentación microbiana.

	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 57 de 94

Figura. Residuos de naranja como subproducto para alimento animal



Fuente. <https://www.poballe.com/alimentacionanimal/blog/sobre-nuestros-productos/pulpa-de-naranja->

### Residuos de banano y plátano

El banano rechazado puede ser utilizado para producir harina de banano con cáscara, la cual es empleada en la producción de panes tajados con mezcla de harinas. El producto elaborado presenta un plus en micronutrientes donde se resalta el yodo, la fibra y el hierro aportado por la materia prima que inciden en una alimentación saludable del consumidor y que se presenta como una alternativa viable que puede ser bien acogida por el mercado. De forma análoga en la utilización del remanente de plátanos, se puede obtener harina de vástago o de raquis la cual presenta una fuente considerable de fibra (23,02%) lo que la hace un complemento importante para alimentos ricos en fibra, tanto para la alimentación animal como humana. Además de la harina, se puede extraer almidón y generación de papel. a partir del uso de los diferentes residuos producidos en la cosecha del plátano -tallo, hoja y fruto- como sustrato para el cultivo del hongo *Pleurotus djamor*, demostró un buen contenido nutricional a partir del análisis bromatológico de los hongos, presentando alta cantidad de proteínas (38.5%) y baja cantidad de grasas (2.0).

	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 58 de 94

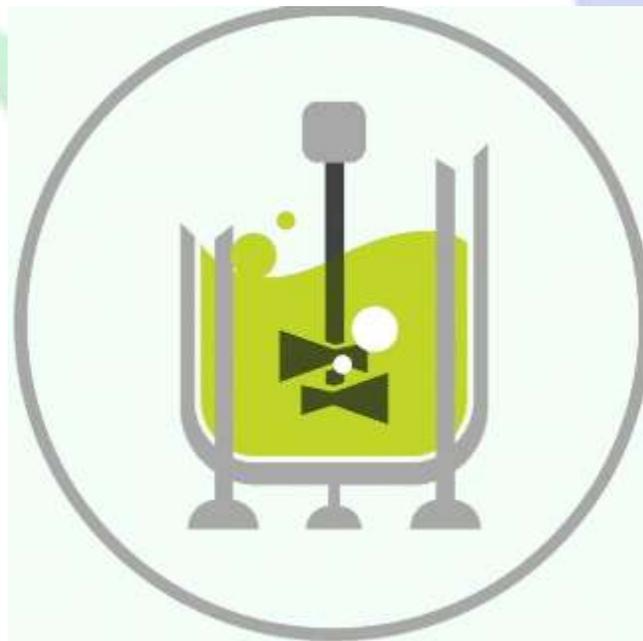
### 6.3 DISEÑO DE BIOREACTORES

#### Bioreactores

Un bioreactor es un recipiente o sistema que mantiene un ambiente biológicamente activo. En algunos casos, un bioreactor es un recipiente en el que se lleva a cabo un proceso químico que involucra organismos o sustancias bioquímicamente activas derivadas de dichos organismos. Este proceso puede ser aeróbico o anaerobio. Estos biorreactores son comúnmente cilíndricos, variando en tamaño desde algunos mililitros hasta metros cúbicos y son usualmente fabricados en acero inoxidable.

La fermentación biológica es una fuente importante de calor, por lo que en la mayor parte de los casos, los biorreactores requieren de agua de enfriamiento. Pueden ser refrigerados con una chaqueta externa o, para recipientes sumamente grandes, con serpentines internos. Los biorreactores industriales usualmente emplean bacterias u otros organismos simples que pueden resistir la fuerza de agitación. También son fáciles de mantener ya que requieren sólo soluciones simples de nutrientes y pueden crecer a grandes velocidades.

Figura. Bioreactor

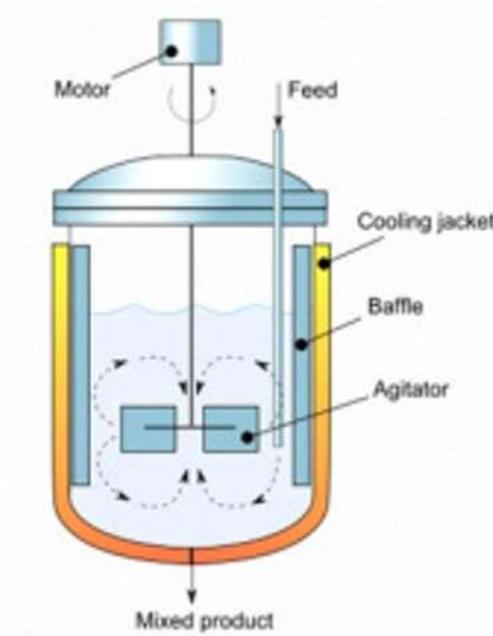


	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 59 de 94

### Bioreactor de flujo intermitente, también llamado reactor batch o de cochada

El reactor tipo Batch es un reactor donde no existe flujo de entrada ni de salida, es simplemente un reactor con un agitador que homogeneiza la mezcla. Es esencialmente un tanque en el que se ha permitido que ocurra una reacción.

Figura. Reactor batch



Fuente. Disponible en: <https://reactorquimico.wordpress.com/reactores-homogeneos-ideales-isotermicos/reactor-homogeneo-batch-y-semibatch/>

Una vez que se ha tratado un lote, se vacía el reactor, y se puede entonces tratar un segundo lote, ya que no hay flujos  $m_{entrante} = 0$  y  $m_{saliente} = 0$ . Por lo tanto, la ecuación de balance de masa se reduce a:

$$\frac{dC}{dt} = \left( \frac{dC}{dt} \right)$$

Así, en un reactor batch, el cambio de la concentración a lo largo del tiempo es simplemente el resultado de una reacción química. Por ejemplo, para una reacción de decaimiento de primer orden,  $r = -kC$ . Así,

	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 60 de 94

$$\frac{dC}{dt} = -kC \quad \text{ó} \quad \frac{C_t}{C_0} = e^{-kt}$$

Las ventajas del reactor mienten con su flexibilidad. Un solo recipiente puede realizar una secuencia de diversas operaciones sin la necesidad de romper la contención. Esto es particularmente útil cuando se procesan tóxicos o componentes altamente potentes. A pesar de que estos reactores son muy usados en procesos industriales y aplicaciones de control de contaminación, para el tratamiento de aguas residuales son poco prácticos pues se necesita tener entrada y salida de agua para que se puedan tratar volúmenes de agua residual considerables. Para entender un poco más estos reactores, se plantea la ecuación de balance de masa de la siguiente manera:

$$\left( \begin{array}{c} \text{Tasa de} \\ \text{Materia} \\ \text{ACUMULADA} \end{array} \right) = \left( \begin{array}{c} \text{Tasa de} \\ \text{Materia} \\ \text{ENTRANTE} \end{array} \right) - \left( \begin{array}{c} \text{Tasa de} \\ \text{Materia} \\ \text{SALIENTE} \end{array} \right) + \left( \begin{array}{c} \text{Tasa de} \\ \text{Materia} \\ \text{REACCIONANTE} \end{array} \right)$$

En un reactor Batch no hay flujo de entrada ni de salida, por tanto los 2 primeros términos de la ecuación son cero.

$$\left( \begin{array}{c} \text{Tasa de} \\ \text{Materia} \\ \text{ACUMULADA} \end{array} \right) = \overset{0}{\cancel{\left( \begin{array}{c} \text{Tasa de} \\ \text{Materia} \\ \text{ENTRANTE} \end{array} \right)}} - \overset{0}{\cancel{\left( \begin{array}{c} \text{Tasa de} \\ \text{Materia} \\ \text{SALIENTE} \end{array} \right)}} + \left( \begin{array}{c} \text{Tasa de} \\ \text{Materia} \\ \text{REACCIONANTE} \end{array} \right)$$

Sustituyendo por términos:

$$V \frac{dC}{dt} = 0 - 0 - kC^n V$$

Donde V habla del volumen del reactor, k está asociada a la constante de remoción de materia orgánica, C refiere a la concentración de materia orgánica del agua residual y n de la cinética de la ecuación.

Suponiendo una cinética de primer orden (n=1), se elimina el término de volumen de un lado y otro, quedando la siguiente ecuación:

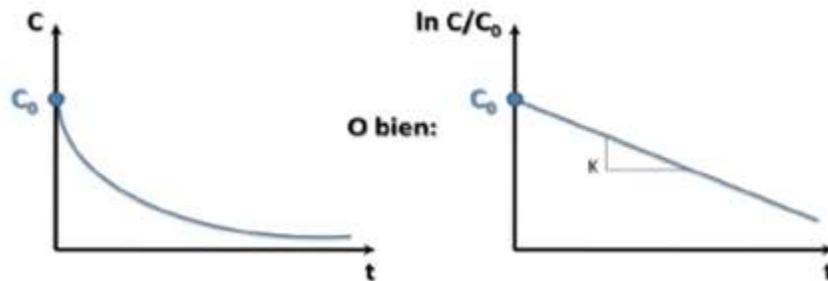
$$\int_{C_0}^C \frac{dC}{C} = -k \int_0^t dt$$

	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 61 de 94

Haciendo la integral se concluye:

$$\ln \frac{C}{C_0} = -kt \quad \text{ó} \quad C = C_0 e^{-kt}$$

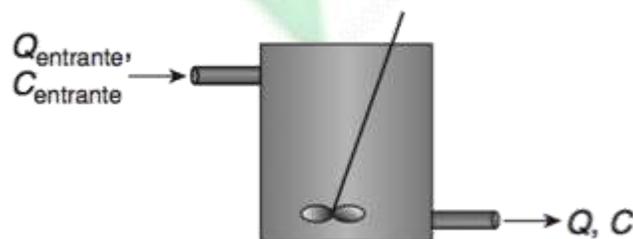
Se obtiene al resolver  $dC/dt = -kC$ , que es cinética de primer orden. Si graficamos éstas ecuaciones se obtiene:



### Reactor de flujo de mezcla completa (CMFR)

Un tanque de mezcla perfecta es una analogía de muchos de los controles de volumen implicados en situaciones medioambientales. Consiste en un reactor de la misma composición que el del tipo Batch, un tanque dotado de un mecanismo de agitación que garantiza un mezclado que haga que toda la mezcla sea uniforme. Un reactor de mezcla completa opera en forma continua, es decir, los flujos de entrada y salida son permanentes. Se supone que la materia entrante es mezclada de manera instantánea y homogénea dentro del reactor, con lo cual se produce una concentración (masa/volumen) en el interior del reactor que también es igual a la concentración de salida.

Figura . diagrama de un reactor de flujo de mezcla perfecta (CMFR)



Para un reactor de mezcla completa, la ecuación de balance de masa se plantea de manera diferente pues existe un flujo estable (por tanto se supone que la tasa de material acumulada es cero) y una velocidad de reacción de la materia orgánica. La ecuación queda planteada de la siguiente manera:



Estos reactores generalmente se operan en condiciones estables (cuando no hay variación con respecto al tiempo), así que el término de acumulación se puede hacer cero:

$$0 = QC_0 - QC - r_c V$$

Donde:

$$r_c = r \pm k C^n$$

Si se considera que la reacción es de orden cero ( $n=0$ ) entonces,  $r_c = -k$

$$\therefore 0 = QC_0 - QC - kV$$

$$kV = Q(C_0 - C)$$

$$k \frac{V}{Q} = C_0 - C$$

$$kt = C_0 - C$$

Donde  $t$  nos refiere al tiempo de retención hidráulica del sistema.

Balance global:

$$\left[ \begin{array}{c} \text{Velocidad de acumulación} \\ \text{del trazador} \\ \text{dentro del reactor} \end{array} \right] = \left[ \begin{array}{c} \text{Flujo másico} \\ \text{de trazador} \\ \text{que entra al reactor} \end{array} \right] - \left[ \begin{array}{c} \text{Flujo másico} \\ \text{de trazador} \\ \text{que sale del reactor} \end{array} \right]$$

$$\frac{dC}{dt} = \frac{Q}{V} (C_0 - C)$$

La expresión que resulta después de la integración es:

	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 63 de 94

$$C = C_0 \left( 1 - e^{-t \left( \frac{Q}{V} \right)} \right) = C_0 (1 - e^{-t/t_0}) = C_0 (1 - e^{-\theta})$$

La respuesta correspondiente a la incorporación de una cantidad determinada de trazador bajo condiciones de mezcla instantánea y sin suspender la alimentación de agua limpia está dada por la expresión:

$$C = C_0 \left( 1 - e^{-t \left( \frac{Q}{V} \right)} \right) = C_0 (1 - e^{-t/t_0}) = C_0 (1 - e^{-\theta})$$

Donde

$C_0$ : concentración inicial de trazador en el reactor.

### Reactor de flujo pistón (PFR)

Figura. Reactor de flujo pistón



Fuente. Disponible en <https://www.slideshare.net/urielvelasquez3762/reactor-flujo-piston-62121584>

El reactor tubular (PFR) se usa para modelar transformaciones químicas de compuestos que se transportan en sistemas que parecen tuberías. Las tuberías de un PFR pueden representar un río, la región entre dos montañas entre las cuales pasa el aire o una variedad de otros conductos naturales o de ingeniería a través de los cuales pasan flujos de líquido o de gas. Por supuesto, en este modelo la tubería puede representar incluso una tubería. A medida que el líquido fluye por el PFR, se mezcla en dirección radial, pero la mezcla no ocurre en la dirección del eje. Es decir, cada recarga de fluido hecha por el pistón se considera una entidad separada que va bajando por la tubería. Sin embargo, el tiempo

	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 64 de 94

transcurre a medida que el fluido (líquido o gas) se mueve corriente abajo. Así, hay una dependencia implícita del tiempo, incluso en estado estacionario, en los problemas que implican un PFR. No obstante, debido a que la velocidad del fluido ( $v$ ) en el PFR es constante, el tiempo y la distancia recorrida hacia abajo ( $x$ ) son intercambiables y  $t = x/v$ . Esto es, el fluido de un movimiento de pistón siempre toma un tiempo igual a  $x/v$  para viajar la distancia  $x$  en el reactor.

Para desarrollar la ecuación que representa la concentración como una función de la distancia dentro del PFR, se analizará la evolución de la concentración en el tiempo de un único fluido en el pistón. Se supone que el pistón está bien mezclado en dirección radial pero que no se mezcla en lo absoluto con el fluido que está antes ni después. A medida que el flujo recorre corriente abajo, ocurre decaimiento químico y la concentración disminuye.

El balance de masa para la masa que se encuentra al interior de este pistón en movimiento es la misma que para el reactor batch:

$$\frac{dm}{dt} = m_{\text{entrante}} - m_{\text{saliente}} + m_{\text{rxn}}$$

$$V \frac{dm}{dt} = 0 - 0 + V \left( \frac{dC}{dt} \right)$$

En donde  $m_{\text{entrante}} - m_{\text{saliente}}$  se han establecido iguales a cero porque no hay intercambio de masa a través de las fronteras del pistón.

Se puede usar la ecuación anterior para determinar la concentración como una función del transcurso del tiempo dentro del PFR para cualquier reacción cinética. En el caso de decaimiento de primer orden,  $V(dC/dt) = -VkC$  :

$$V \frac{dC}{dt} = -VkC$$

	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 65 de 94

Lo que da como resultado:

$$\frac{C_t}{C_0} = \exp(-kt)$$

En general, es deseable expresar la concentración a la salida del PFR en términos de la concentración de entrada y longitud o volumen del PFR, en lugar del tiempo que pasó adentro. En un PFR de longitud  $L$ , cada pistón viaja por un periodo  $t = L/v = L * A/Q$ , donde  $A$  es el área transversal del PFR y  $Q$  es la velocidad de flujo. El producto de la longitud y el área transversal es simplemente el volumen del PFR, así que la ecuación anterior es equivalente a:

$$\frac{C_{saliente}}{C_{entrante}} = \exp\left(-\frac{kV}{Q}\right)$$

La ecuación no depende del tiempo. Aunque la concentración al interior de un pistón dado cambia con el tiempo a medida que viaja pistón abajo, la concentración a una cierta localización dada dentro del PFR es constante con respecto al tiempo, debido a que todas las tandas de flujo que llegan a dicha localización han pasado el mismo tiempo en el PFR.

#### 6.4 REACTOR BIOLÓGICO Y SU DISEÑO

Lo primero que hay que entender en el diseño de reactores biológicos es que contrario a los químicos, su cinética no está determinada exclusivamente por la velocidad de reacción y las variables que la determinan. Aunque se puede describir de manera similar a la química, la cinética biológica también depende de características intrínsecas del organismo o cultivo tales como crecimiento y tasa de división celular, así como del tipo de operación que se lleve a cabo. Por eso, lo primero que se define en el diseño de un biorreactor es el propósito de utilización; es decir, qué tipo de cultivo se va a utilizar, el modo de operar y/o el proceso de cultivo. El conjunto biorreactor- sistema de cultivo debe cumplir con los siguientes objetivos:

- Mantener las células uniformemente distribuidas en todo el volumen de cultivo.
- Mantener constante y homogénea la temperatura.

	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 66 de 94

- Minimizar los gradientes de concentración de nutrientes.
- Prevenir la sedimentación y la floculación.
- Permitir la difusión de gases nutrientes a la velocidad requerida por el cultivo.
- Mantener el cultivo puro.
- Mantener un ambiente aséptico.
- Maximizar el rendimiento y la producción.
- Minimizar el gasto y los costos de producción.
- Reducir al máximo el tiempo.

### **Clasificación operativa**

Tanto biorreactores como fermentadores se clasifican primeramente de acuerdo con modo de operación: discontinuo, semicontinuo, continuo.

Esta es una clasificación operativa y se aplica a cualquier reactor, sea químico o biológico (biorreactor). En los reactores biológicos el modo de operación define el sistema de cultivo que es el mismo y delimita la clasificación procesal-productiva del bioproceso (cultivo). Al operar un biorreactor en una determinada categoría (discontinuo, semicontinuo, continuo), automáticamente queda determinado el modo de cultivo del sistema y se definen los parámetros y las características operativas y de diseño que intervienen en el proceso productivo del sistema.

### **Clasificación biológica**

Los sistemas biológicos deben interactuar con el ambiente externo para poder crecer y desarrollarse; es por eso que los biorreactores se clasifican biológicamente de acuerdo al metabolismo procesal del sistema de cultivo: anaeróbico, facultativo, aeróbico.

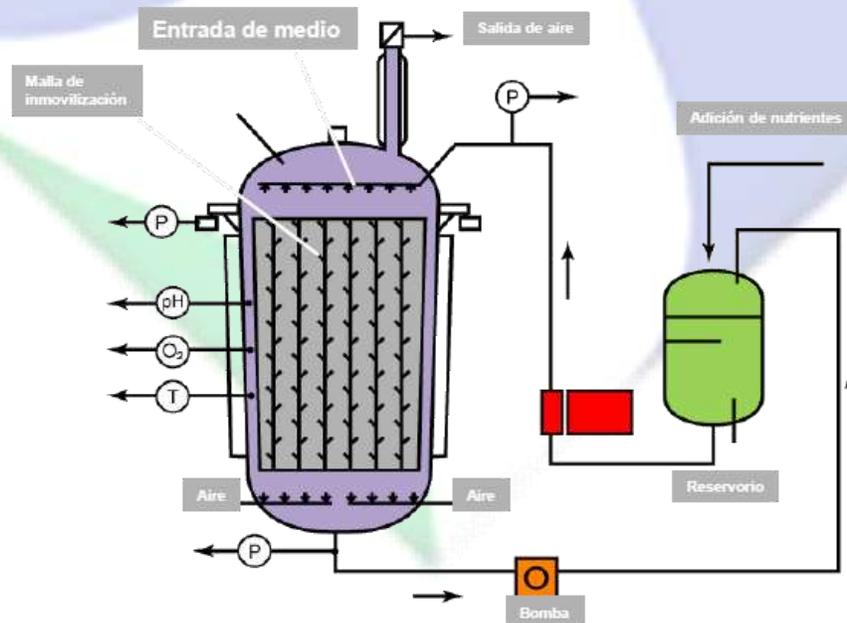
Los bioprocesos de cultivo y las fermentaciones están basados en el metabolismo celular del cultivo. El metabolismo define los parámetros y características operativas-biológicas de diseño y de operación del biorreactor.

Estas características son las que intervienen en la parte biológica del sistema y tienen que ver con el crecimiento, productividad y rendimiento del cultivo; por lo que, definen la clasificación biológica- procesal del sistema de cultivo.

### Clasificación biológica-operativa

Ambas clasificaciones; la biológica y la operativa, son procesalmente interdependientes y en su conjunto afectan el diseño final del biorreactor. Al conjuntarse ambas clasificaciones, se conjuntan también la función operativa y la biológica para establecer entre ambas un propósito de utilización, el modo de cultivo y el bioproceso. Siendo el propósito de utilización, el destino de cultivo del biorreactor; para qué tipo de cultivo va a ser utilizado el biorreactor; el modo de cultivo es sinónimo de sistema de cultivo y el bioproceso es en sí, todo el proceso para la historia.

**Figura.** Biorreactor de lecho de goteo con malla para inmovilizar las raíces.



Fuente. Aplicaciones de la propagación masiva de plantas. Disponible en:  
<https://es.slideshare.net/neerajsoftengg/bioreactores-xi-2009>

	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 68 de 94

## 7 OPERACIONES DE SEPARACIÓN Y PURIFICACIÓN

Las operaciones individuales que cambian o separan los componentes se denominan operaciones unitarias y varían para cada bioproceso. La mayoría de los bioprocesos involucran una o más operaciones unitarias como: centrifugación, cromatografía, cristalización, destilación, secado, etc.

En un bioproceso típico las materias primas se alteran significativamente por los procesos que ocurren en el biorreactor. Sin embargo, los cambios físicos que se realizan antes y después de los bioprocesos son también importantes para preparar los sustratos para la bioreacción (tratamiento previo) y para extraer y purificar los productos deseados de los caldos de cultivo.

### 7.1 MÉTODOS DE SEPARACIÓN

En la unidad se presentan las etapas de tratamientos de los productos y las operaciones unitarias como lo son: la centrifugación, la filtración, cromatografía, electroforesis, liofilización, extracción líquido-líquido, extracción sólido-líquida y separación por membranas. A continuación, se describirán las etapas de operación más utilizadas en los procesos de tratamiento.

#### Separación de las Células

Comúnmente la primera etapa en la recuperación del producto de la bioreacción es la separación de las células del caldo de fermentación. Eso es necesario porque la biomasa en sí puede ser el producto deseado, como por ejemplo la levadura panadera, pero también se requiere cuando el producto deseado está en la fase líquida. Para esta separación las operaciones unitarias más utilizadas son la filtración y la centrifugación. Entre los equipos de filtración a utilizar se incluyen también la ultra y la microfiltración.

	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 69 de 94

## **Ruptura celular**

En los casos que los productos de interés están en el interior de las células, se lleva a cabo el proceso de ruptura celular, en la cual se utiliza principalmente las operaciones de homogeneización, molino de bolas y el shock osmótico.

## **Aislamiento primario**

Aunque hay disponible una gran variedad de técnicas disponibles para la separación primaria de los productos extraídos del interior de las células o de los caldos libres de células, el método a utilizar está en dependencia de las propiedades físicas y químicas de los productos y del material que lo acompañe. Otro rasgo distintivo de esta etapa del proceso es que típicamente trata grandes volúmenes de material y es relativamente no-selectivo. Las operaciones unitarias más utilizadas para el aislamiento primario son la adsorción, extracción en fase líquida y precipitación.

## **Purificación**

Los procesos de purificación son altamente selectivos, ya que logran separar los productos de impurezas que tienen propiedades muy similares. Las operaciones unitarias más utilizadas en esta etapa de Tratamiento de los Productos son la cromatografía, ultrafiltración y precipitación fraccional.

## **Aislamiento final**

La pureza final requerida depende de la aplicación que va a tener el producto y es la que determina la secuencia de procesos necesarios. Una secuencia de operaciones unitarias típica para obtener productos de alta calidad como los productos farmacéuticos, es la que comienza con cristalización y continúa con centrifugación o filtración y secado.

	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 70 de 94

## 7.2 CENTRIFUGACIÓN

La centrifugación es un método que permite separar sólidos de líquidos, o líquidos de líquidos de diferentes densidades mediante la utilización de una centrifuga de laboratorio. La centrifuga obliga a una mezcla a experimentar un movimiento rotatorio con una fuerza de mayor intensidad que la fuerza gravitacional, provocando la sedimentación del sólido o de las partículas de mayor densidad. Este es uno de los principios en los que se basa la densidad: todas las partículas, por poseer masa, se ven afectadas por cualquier fuerza. La centrifugación impone, gracias a la aceleración centrífuga, un efecto parecido al gravitacional: Las partículas experimentan una aceleración que las obliga a sedimentar

### Métodos de Centrifugación

**Centrifugación Diferencial.** Se basa en una diferencia en la densidad de las moléculas. Esta diferencia debe ser grande para poder ser observada al centrifugar; Las partículas que posean densidades similares sedimentan juntas. Este método no es específico, por lo que se utiliza como centrifugación preparativa para separar partículas de otros componentes en la mezcla (por ejemplo, para separar mitocondrias de núcleos y membrana) pero no es útil para separar moléculas.

**Centrifugación Zonal.** Las partículas se separan al usar medios de diferente densidad. Las partículas con mayor densidad se sedimentaran al fondo (precipitado). Aquellos componentes de la mezcla con menor densidad al medio quedarán en el sobrenadante mientras que las partículas con densidad similar a la del medio de centrifugación, quedarán en una zona intermedia entre el precipitado y el sobrenadante. El medio puede no presentar gradientes de concentración (centrifugación zonal sin gradiente) o tener diferencias de concentración (centrifugación zonal con gradiente).

**Ultracentrifugación.** Permite estudiar las características de sedimentación de estructuras subcelulares (lisosomas, ribosomas y microsomas) y biomoléculas. Usar rotores especiales (fijos o de columpio) y sistemas de monitoreo.

	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 71 de 94

Figura. Centrifugadora modelo 4000R



Fuente. Disponible en: <http://www.labolan.es/es/producto/centrifuga-modelo-4000r-refrigerada.html>

### 7.3 FILTRACIÓN

Se conoce como filtración a una técnica para separar sólidos en suspensión dentro de un fluido (líquido o gas), empleando para ello un medio filtrante: un sólido poroso que pasa a denominarse tamiz, filtro o criba. Este filtro retiene los sólidos de mayor tamaño y permite el paso del fluido, junto con las partículas de tamaño inferior.

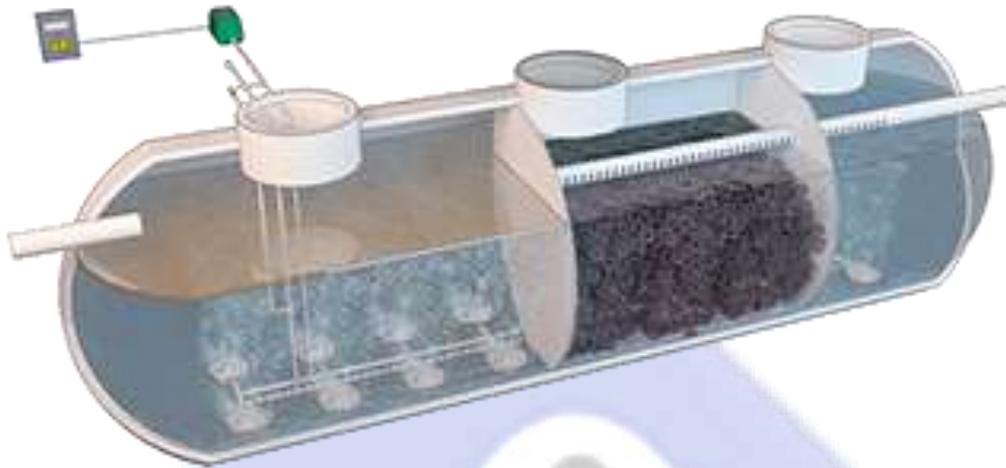
#### Tipos de filtración.

Dependiendo del material filtrante empleado, podemos distinguir diversos tipos de filtración:

- **Filtrado ordinario.** Aquel que se lleva a cabo con membranas o tamices cuyos agujeros son iguales o superiores a un milímetro.
- **Microfiltración.** La que se realiza con tamices cuyos poros oscilan entre 0,1 y 10 micrones.
- **Ultrafiltración.** Este proceso de filtración retiene moléculas cuyo peso supere los 103 Dalton/gmol, permitiendo separar proteínas o desinfectar agua con bacterias.
- **Nanofiltración.** La más fina de las filtraciones, capta moléculas sin carga eléctrica que tengan peso superior a 200 Dalton/gmol, y es aplicada en la industria química para obtener sustancias específicas.

 Instituto Universitario de La Paz UNIPAZ	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 72 de 94

Figura. Filtro biológico



Fuente. <http://www.ecodena.com.mx/phone/lodos-activados.html>

## 7.4 CROMATOGRAFÍA

Técnica de separación en la cual, los componentes de la muestra se distribuyen entre dos fases de diferente naturaleza, como consecuencia de la variación de velocidad que se establece al ser arrastrados por una fase móvil, líquida o gaseosa, a través de una fase estacionaria, sólida o líquida.

**La fase móvil:** que fluye a través de una fase estacionaria, arrastrando con ella a los compuestos de la mezcla.

**La fase estacionaria:** en la cual están retenidos los componentes de la muestra, y a través de la cual fluye la fase móvil arrastrando a los mismos.

La cromatografía fue originalmente descrita por Tswett en 1906. Ideó un método para separar pigmentos de las plantas utilizando un tubo de vidrio lleno de  $\text{CaCO}_3$ , Después de añadir un extracto de las plantas y lavarlo con un disolvente orgánico observó que se separaban diferentes bandas coloreadas en el interior de la columna.

	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 73 de 94

Los componentes de las muestras se distribuyen en el interior del lecho cromatográfico al ser arrastrados por la fase móvil, Las especies individuales quedan retenidas en la fase estacionaria en función de las interacciones que tienen lugar tales como: adsorción superficial, solubilidad y carga.

La aplicación práctica de la cromatografía consiste en hacer pasar la fase móvil a través de la columna cromatográfica que contiene la fase estacionaria, donde están retenidos los solutos.

Figura . cromatografo de gases



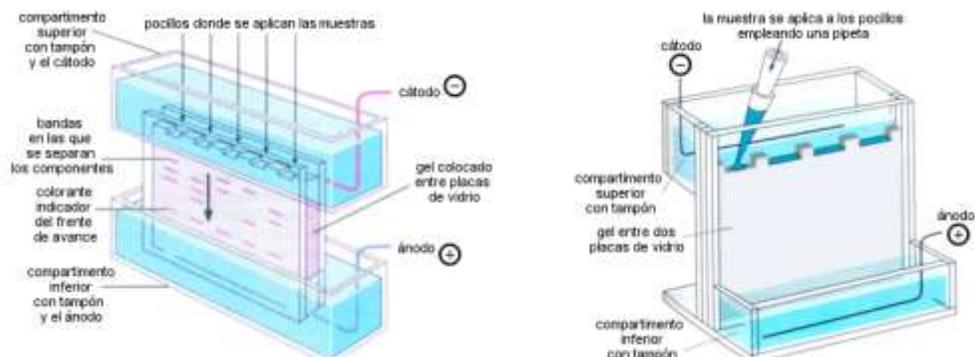
**Fuente. Disponible en:** <https://sstti.ua.es/es/instrumentacion-cientifica/unidad-de-analisis/cromatografia-de-gases.html>

## 7.5 ELECTROFORESIS

La electroforesis es una técnica para la separación de moléculas según la movilidad de estas en un campo eléctrico a través de una matriz porosa, la cual finalmente las separa por tamaños moleculares y carga eléctrica, dependiendo de la técnica que se use.

 Instituto Universitario de La Paz UNIPAZ	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 74 de 94

Figura . esquema de cubeta de electroforesis



Fuente. Disponible en: <http://biomodel.uah.es/tecnicas/elfo/inicio.htm>

## Técnicas Electroforéticas

**Electroforesis capilar en zona o en disolución libre (CZE).** Es el procedimiento de electroforesis más habitual, en el cual el capilar es recorrido por el electrolito a través de un medio buffer que puede ser ácido (fosfato o citrato), básico (borato), o anfótero (carácter ácido y básico). El flujo electrosmótico crece con el pH del medio electroforético.

**Electroforesis capilar electrocinética micelar (MEKC).** En esta variante del procedimiento anterior se añade a la fase móvil un compuesto catiónico o aniónico para formar micelas cargadas. Estas pequeñísimas gotitas inmiscibles con la disolución retienen a los compuestos neutros de un modo más o menos eficaz, por afinidad hidrófila-hidrófoba. Se puede utilizar este tipo de electroforesis para moléculas que tienen tendencia a migrar sin separación, como es el caso de algunos enantiómeros.

**Electroforesis capilar en gel (CGE).** Esta es la transposición de la electroforesis en un gel de poliacrilamida o de agarosa. El capilar está relleno con un electrolito que contiene al gel. Se produce un efecto de filtración que ralentiza a las grandes moléculas y que minimiza los fenómenos de convección o de difusión. Los oligonucleótidos, poco frágiles, se pueden separar de este modo.

	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 75 de 94

**Isoelectroenfoque capilar (CIEF).** Esta técnica, también conocida como electroforesis en soporte, consiste en crear un gradiente de pH lineal en un capilar con pared tratada que contiene un anfótero. Cada compuesto migra y se enfoca al pH que tenga igual valor que su punto isoeléctrico (al pl su carga neta es nula). Seguidamente, bajo el efecto de una presión hidrostática y manteniendo el campo eléctrico, se desplazan las especies separadas hacia el detector. Las altas eficiencias obtenidas con este procedimiento permiten separar péptidos con pl que apenas difieren entre sí 0.02 unidades de pH.

**Electrocromatografía Capilar.** Este tipo de separación asocia la electromigración de los iones, propio de la electroforesis, y los efectos de separación entre fases presentes en la cromatografía. La técnica consiste en la utilización de un capilar relleno con una fase estacionaria, cuyo papel es doble: actúa como material selectivo que debe, por otro lado, participar en la migración del electrolito.

## 7.6 LIOFILIZACIÓN

La liofilización es una técnica de deshidratación por frío, un proceso común en la industria alimentaria conocido como deshidrocongelación (secado por congelación) el cual tiene la virtud de mantener al máximo las propiedades organolépticas de los alimentos. Este método se realiza al vacío. La palabra deriva del griego, que en traducción es “hecho para amar las disoluciones”, o sea obtendremos un producto de muy fácil disolución y/o regeneración.

**Congelación inicial.** Es una operación previa y obligatoria. El tiempo de duración depende de varios factores como la cantidad, concentración y naturaleza propia del producto. En líneas generales podemos decir que una congelación adecuada es la base de que el producto liofilizado presente óptimas condiciones de aspecto, conservación de sus propiedades originales y rápida rehidratación.

**Sublimación o desecación primaria.** Es la etapa en la que la mayor parte del agua libre pasa a vapor. Los parámetros temperatura, presión y tiempo pueden ser modificados independientemente pero están íntimamente relacionados, no es posible modificar uno sin

	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 76 de 94

que se afecten los otros, por lo que en todo momento deben ser considerados y analizados sus efectos conjuntamente.

**Desorción o desecación secundaria.** Su misión es eliminar las últimas trazas de vapor de agua, evaporando el agua no congelada ligada al producto. Se lleva a cabo a una temperatura inferior a la de desnaturalización del producto y se logra una [humedad](#) final con valores inferiores al 1 %.

Figura. Alimentos liofilizados



Fuente. Disponible en: <http://www.resistenciamodulada.com/liofilizacion-deshidratacion-absoluta/>

## 7.7 EXTRACCIÓN LÍQUIDO-LÍQUIDO

la extracción líquido-líquido es, junto a la destilación, la operación básica más importante en la separación de mezclas homogéneas líquidas. Consiste en separar una o varias sustancias disueltas en un disolvente mediante su transferencia a otro disolvente insoluble, o parcialmente insoluble, en el primero. La transferencia de materia se consigue mediante el contacto directo entre las dos fases líquidas. Una de las fases es dispersada en la otra para aumentar la superficie interfacial y aumentar el caudal de materia transferida.

	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 77 de 94

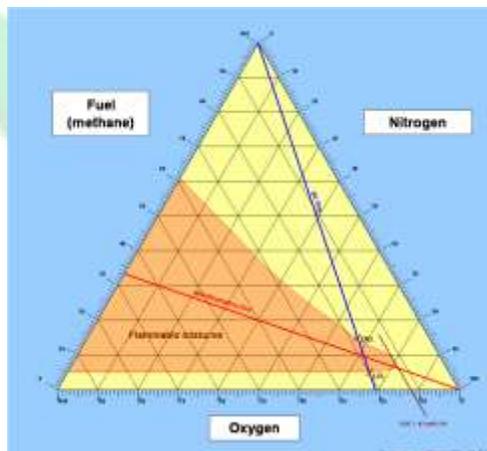
## Aplicaciones

- Separación de compuestos inorgánicos como ácido fosfórico, ácido bórico e hidróxido de sodio.
- Recuperación de compuestos aromáticos.
- Refinación de aceites lubricantes y disolventes
- En la extracción de productos que contienen azufre.
- Obtención de ceras parafínicas
- Desulfuración de productos petrolíferos
- Productos farmacéuticos Ejemplo en la obtención de la penicilina
- Industria alimentaria
- Obtención de metales costosos, Ej como uranio-vanadio.

## Diagramas de equilibrio ternario

En el diseño de una operación de extracción líquido-líquido suele considerarse que el refinado y el extracto se encuentran equilibrio. Los datos de equilibrio que deberán manejarse serán como mínimo los correspondientes a un sistema ternario (dos disolventes y un soluto), con dos de los componentes inmiscibles o parcialmente inmiscibles entre sí.

Figura. Diagrama ternario



Fuente. Disponible en: [https://www.ecured.cu/Extracci%C3%B3n\\_L%C3%ADquido-L%C3%ADquido](https://www.ecured.cu/Extracci%C3%B3n_L%C3%ADquido-L%C3%ADquido)

	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 78 de 94

## Equipos para la extracción líquido-líquido.

Extracción por etapas:

Mezclador - sedimentador

Torres platos perforados

Columnas de bandeja

Extracción por contacto continuo diferencial:

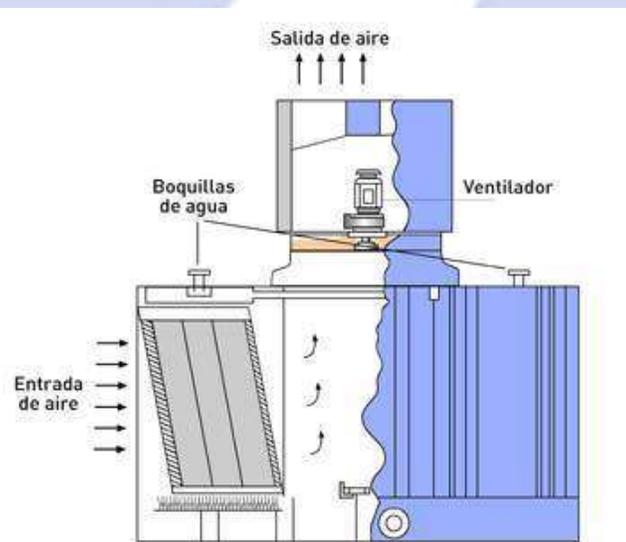
Torres de pulverización

Torres de relleno

Columnas pulsadas

Extractores centrífugos

Figura. Extracción en etapas múltiples flujo cruzado



Fuente. Disponible en: [https://www.ecured.cu/Extracci%C3%B3n\\_L%C3%ADquido-L%C3%ADquido](https://www.ecured.cu/Extracci%C3%B3n_L%C3%ADquido-L%C3%ADquido)

## 7.8 EXTRACCIÓN SÓLIDO-LÍQUIDO

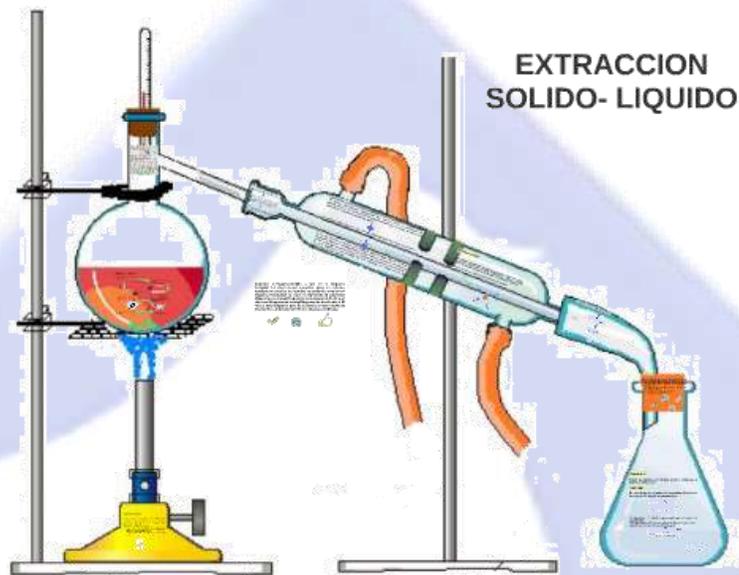
Extracción sólido-líquido, es un proceso en el que un disolvente líquido pasa a través de un sólido pulverizado para que se produzca la elución de uno o más de los componentes solubles del sólido. Difiere poco del lavado o filtrado de sólidos.

	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 79 de 94

Algunos ejemplos:

- El azúcar se separa de la remolacha con agua caliente.
- Los aceites vegetales se recuperan a partir de semillas mediante la lixiviación con disolventes orgánicos.
- La extracción de colorantes se realiza a partir de materias sólidas por lixiviación con alcohol o sosa.

Figura. Extractor soxhlet



Fuente. Soxhlet apparatus. Disponible en:  
<https://www.slideshare.net/AbarnaAbi1/soxhlet-apparatus>

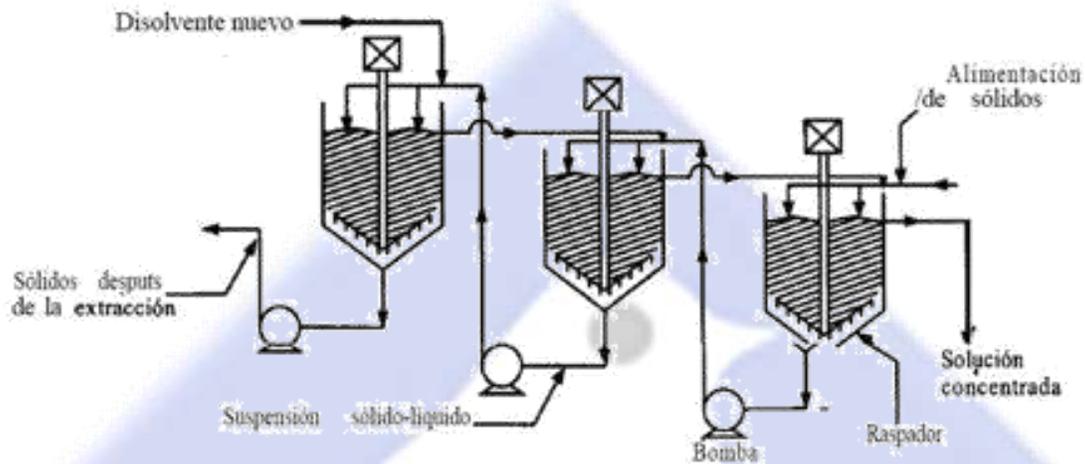
La extracción sólido-líquido consiste en la disolución de un componente (o grupo de componentes) que forman parte de un sólido empleando un disolvente adecuado en el que es insoluble el resto del sólido, que se denomina inerte. La extracción siempre tiene lugar en dos etapas:

1. Contacto del disolvente con el sólido a tratar, para disolver el componente soluble, o soluto.
2. Separación de la disolución y el resto del sólido.

La solución separada se denomina flujo superior o extracto; recibiendo el nombre de refinado, flujo inferior o lodos, el sólido inerte acompañado de la disolución retenida por el

mismo. Las dos partes anteriores constituyen una etapa o unidad de extracción, que recibe el nombre de ideal o teórico.

Figura. Lixiviación a contracorriente usando espesadores

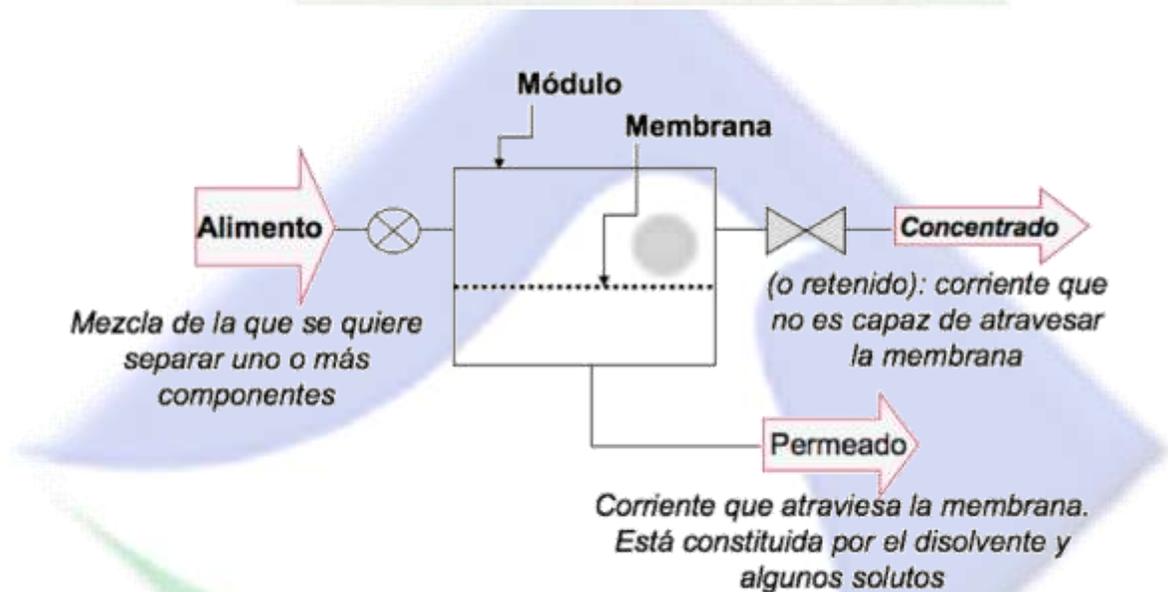
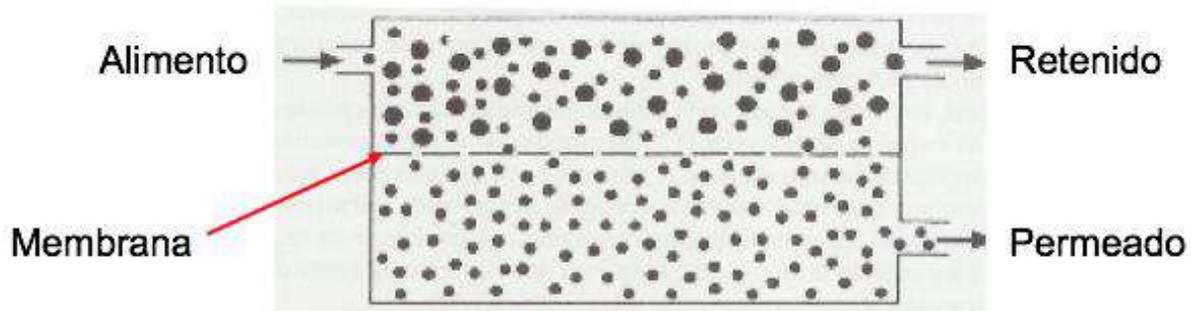


Fuente. Lixiviación. Disponible en: <http://slideplayer.es/slide/3104502/>

## 7.9 SEPARACIÓN POR MEMBRANAS

La Tecnología de Membranas es un conjunto de operaciones de separación de uno o más componentes de una fase líquida utilizando una membrana con permeabilidad selectiva al mismo o a los mismos. El transporte a través de la membrana se efectúa por la acción de una FUERZA IMPULSORA (gradiente de potencial eléctrico, gradiente de concentración, o gradiente de presión).

Figura. Esquema de una unidad básica de separación por membrana (UBSM).



Fuente. Separación por membranas. Disponible en: <https://docplayer.es/69607566-Separacion-por-membranas.html>

Los tipos de operaciones con membranas se indican en la tabla de acuerdo con principio de la técnica y de la fuerza impulsora que gobierna el transporte.

Tabla. Tipos de operaciones con membranas

<i>Principio</i>	<i>Fuerza impulsora</i>	<i>Operación</i>
<i>Eléctrico</i>	Gradiente de potencial	Electrodialisis
<i>Químico</i>	Gradiente de concentración	Diálisis/Pervaporación
<i>De presión</i>	Gradiente de Presión	Ósmosis inversa Nanofiltración Ultrafiltración Microfiltración

Fuente. Separación por membranas. Disponible en: <https://docplayer.es/69607566-Separacion-por-membranas.html>

En la **microfiltración** (MF), se trabaja a baja presión para separar partículas de alto peso molecular, coloides en suspensión o bien sólidos disueltos. Aplicaciones frecuentes incluyen la separación de células de extractos fermentados, fraccionamiento de proteínas de leche, clarificación de jarabe de maíz y la recuperación de químicos de lavado CIP.

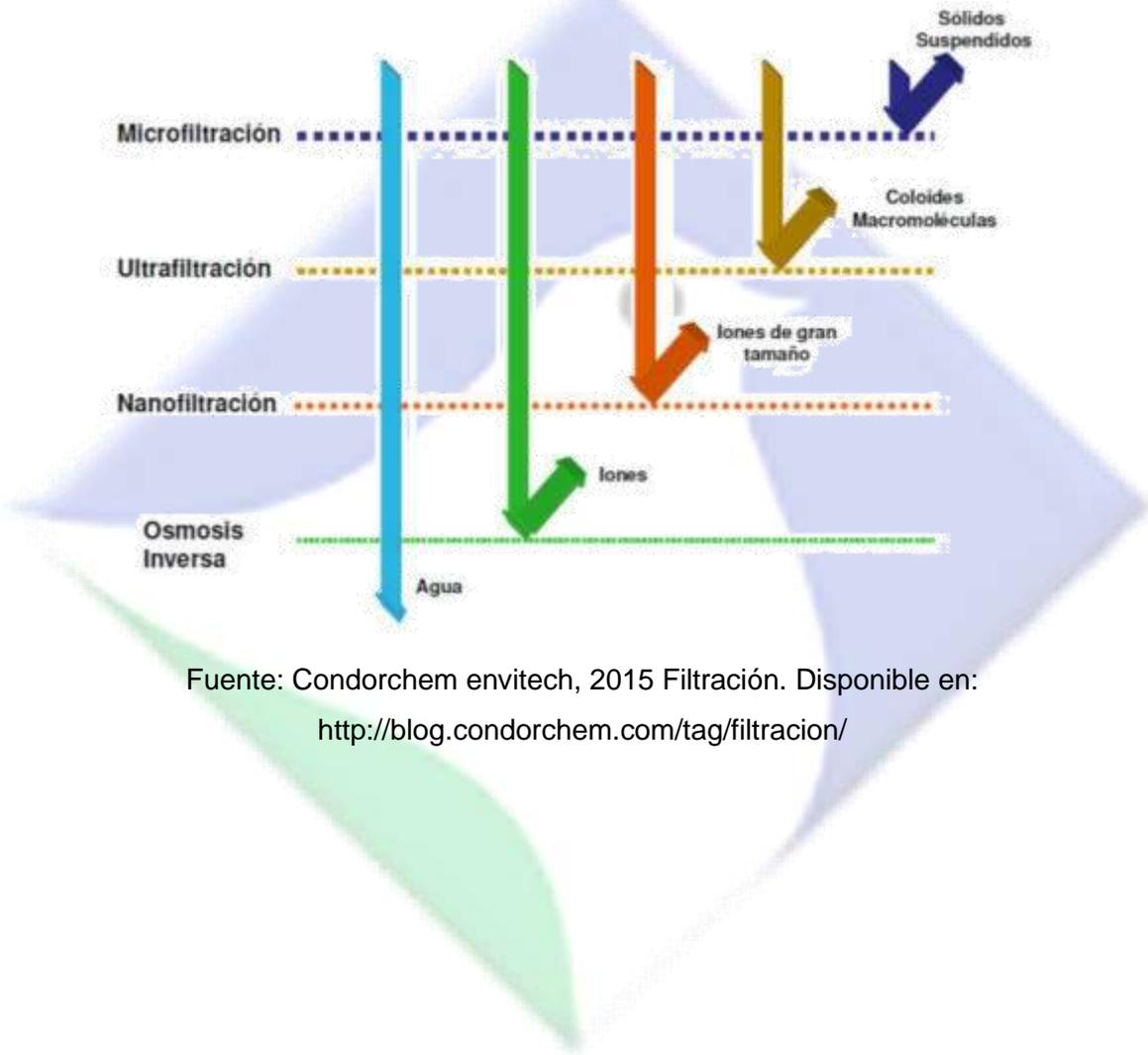
La **ultrafiltración** (UF) es un paso de separación selectiva usada tanto para concentrar como para purificar compuestos de medio y alto peso molecular como proteínas lácteas, carbohidratos, y enzimas. Como áreas comunes de aplicación podemos mencionar la concentración de proteínas de suero, de-salinización de gelatinas y concentración y clarificación de zumos de frutas.

Por otra parte, la **nanofiltración** (NF) se considera como un proceso único entre la ultrafiltración y la ósmosis inversa, especialmente diseñada para conseguir separaciones específicas de compuestos de bajo peso molecular como azúcares, minerales disueltos y sales. Aplicaciones típicas incluyen desalinización de productos lácteos, recuperación de proteínas hidrolizadas, concentración de azúcares y purificación de tinturas y pigmentos solubles.

Por último, la **ósmosis inversa** (OI) es un proceso de alta presión muy utilizado como un método energéticamente eficiente para eliminar agua, concentrar compuestos de bajo peso molecular o purificar efluentes. Como aplicaciones comunes podemos mencionar la

preconcentración de lácteos o de alimentos líquidos previo a una evaporación, pulido de condensado de evaporador y purificación de agua de proceso.

Figura. Comparación del tamaño de partícula que puede atravesar las membranas de las diferentes técnicas de separación debidas al gradiente de presión



Fuente: Condorchem envitech, 2015 Filtración. Disponible en:  
<http://blog.condorchem.com/tag/filtracion/>

	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 84 de 94

## 8 BIBLIOGRAFÍA

ORTIZ, G. Introducción a la biotecnología. 2011. Disponible en <https://docplayer.es/3572224-Introduccion-a-los-bioprosesos.html>

Virus, bacterias, protistas y hongos. Disponible en: [http://fresno.pntic.mec.es/msap0005/1eso/T09-virus-bacteria-otros/Tema\\_9.htm](http://fresno.pntic.mec.es/msap0005/1eso/T09-virus-bacteria-otros/Tema_9.htm)

Organismos genéticamente modificados. Disponible en: [https://www.ecured.cu/Organismos\\_geneticamente\\_modificados](https://www.ecured.cu/Organismos_geneticamente_modificados)

Metabolitos primarios y secundarios. Disponible en: <https://es.scribd.com/doc/27252775/Metabolitos-Primarios-y-Secundarios>

Crecimiento, supervivencia y muerte de microorganismos. Disponible en: <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1837&sectionid=128955900&jumpsectionid=128955971>

Metabolitos primarios y secundarios. Disponible en: <https://es.scribd.com/doc/27252775/Metabolitos-Primarios-y-Secundarios>

Fuente. Aprovechamiento de residuos agroindustriales en Colombia <http://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/riaa/article/view/2040/2251>

Fuente. Bioreactores y su aplicación. Disponible en: <https://sites.google.com/site/bioingenieriauv15/unidad-2-biorreactores-y-su-aplicacion>

Introducción a los bioprosesos. Disponible en: [https://www.academia.edu/36813528/Introducci%C3%B3n\\_a\\_los\\_Bioprosesos\\_act.\\_2018](https://www.academia.edu/36813528/Introducci%C3%B3n_a_los_Bioprosesos_act._2018)

	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 85 de 94

Extracción sólido líquido. Disponible en:  
[https://www.ecured.cu/Extracci%C3%B3n\\_L%C3%ADquido-L%C3%ADquido](https://www.ecured.cu/Extracci%C3%B3n_L%C3%ADquido-L%C3%ADquido)

Alimentos liofilizados. Disponible en: <http://www.resistenciamodulada.com/liofilizacion-deshidratacion-absoluta/> Lixiviación. Disponible en: <http://slideplayer.es/slide/3104502/>

Separación por membranas. Disponible en: <https://docplayer.es/69607566-Separacion-por-membranas.html>



## 9 ACTIVIDADES

### ACTIVIDAD 1.

1. Realice el diagrama de un proceso de producción alimentario donde interviene un bioproceso.



3. ¿La vida en la tierra sería como la conocemos sin las bacterias?

---

---

---

4. ¿Por qué se dice que las algas son talofitas?

---

---

---

5. ¿Qué diferencias existen entre los hongos y las plantas?

---

---

---

6. Defina las diferencias entre metabolitos primarios y secundarios.

---

---

---

7. Explique las fases del crecimiento microbiano.

---

---

---

8. Plantee el balance de materia para el oxígeno y el nitrógeno del ejemplo dado.

9. De ejemplos de alimentos genéticamente modificados en Colombia.

---

---

---

	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 88 de 94

## ACTIVIDAD 2.

1. Seleccione la opción correcta.

**a. Entre los factores que pueden modificar la actividad de una enzima se encuentran:**

- pH
- Temperatura
- Contenido en aminoácidos no polares
- Peso molecular

**b. Las enzimas aceleran la velocidad de las reacciones bioquímicas porque**

- Aumentan la energía de activación
- Debilitan los enlaces de la molécula de sustrato
- Pueden funcionar a temperaturas muy altas
- Hacen que aumente el orden de la reacción

**c. La unión del sustrato a la enzima**

- Se realiza con una orientación determinada, que facilita la reacción
- Tiene lugar en cualquier zona de la enzima
- Desestabiliza sus enlaces químicos
- Es más fuerte cuanto mayor es la energía de activación

**d. En la formación del complejo enzima-sustrato**

	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 89 de 94

- El sustrato se une a la enzima en un lugar cercano al centro activo
- El sustrato se suele unir al centro activo por complementariedad de estructuras
- El sustrato puede provocar cambios conformacionales en el centro activo
- Se debilitan los enlaces químicos de la molécula de sustrato

**e. Con esta técnica los soportes no son necesarios, ya que la inmovilización se da por un enlace directo entre enzimas, que puede ser mediado o no por un agente de unión**

- Inmovilización reversible
- Inmovilización de células
- Formación de enlaces cruzados**
- Formación de enlaces covalentes

2. Explique y realice el diagrama de flujo del proceso de producción de cerveza.



MÓDULO:

BIOPROCESOS

Prof.

Escuela de Ingeniería agroindustrial

Página 90 de 94

---

---

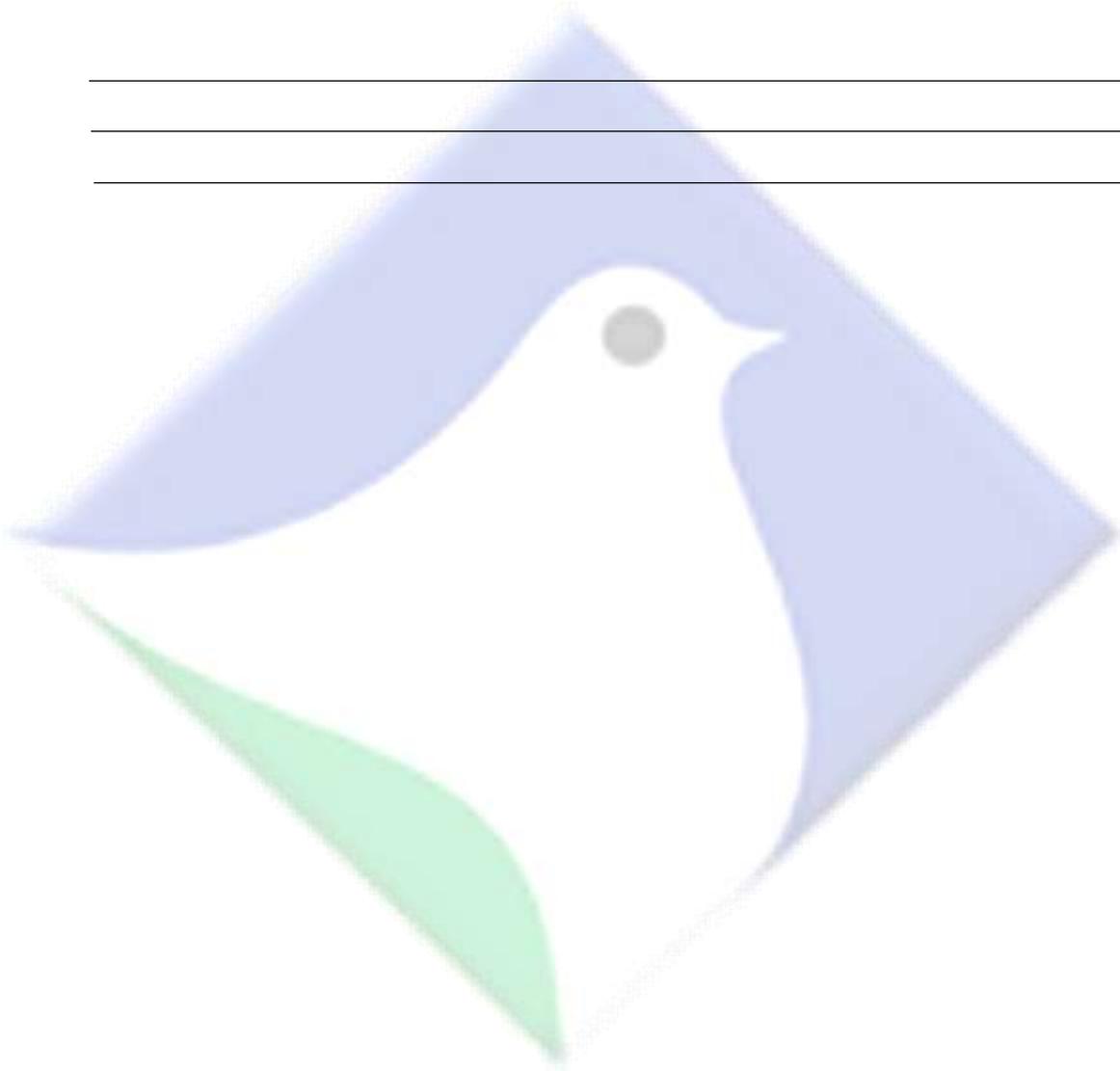
---

---

---

---

---



	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 91 de 94

### ACTIVIDAD 3.

3. Seleccione la opción correcta.

a. La duración del cultivo depende esencialmente de las condiciones iniciales, una vez inoculado el medio, la concentración de biomasa aumenta a expensas de los nutrientes disponibles. Cuando el sustrato que limita el crecimiento se agota, finaliza.

- Reactor de flujo de mezcla completa
- Fermentación continua
- Cultivo batch
- Cultivo alimentado

b. En este tipo de fermentación se establece un sistema abierto. La solución nutritiva estéril se añade continuamente al biorreactor y una cantidad equivalente del cultivo, con los microorganismos, se saca simultáneamente del sistema.

- Cultivo continuo
- Fermentación discontinua
- Fermentación continua
- Reactor batch

c. Consiste en un tanque dotado de un mecanismo de agitación que garantiza un mezclado que hace que toda la mezcla sea uniforme. Opera en forma continua, es decir, los flujos de entrada y salida son permanentes.

- Fermentación continua
- Reactor batch
- Reactor de flujo de mezcla completa
- Fermentación continua

4. Describa el proceso de fermentación del cacao

---

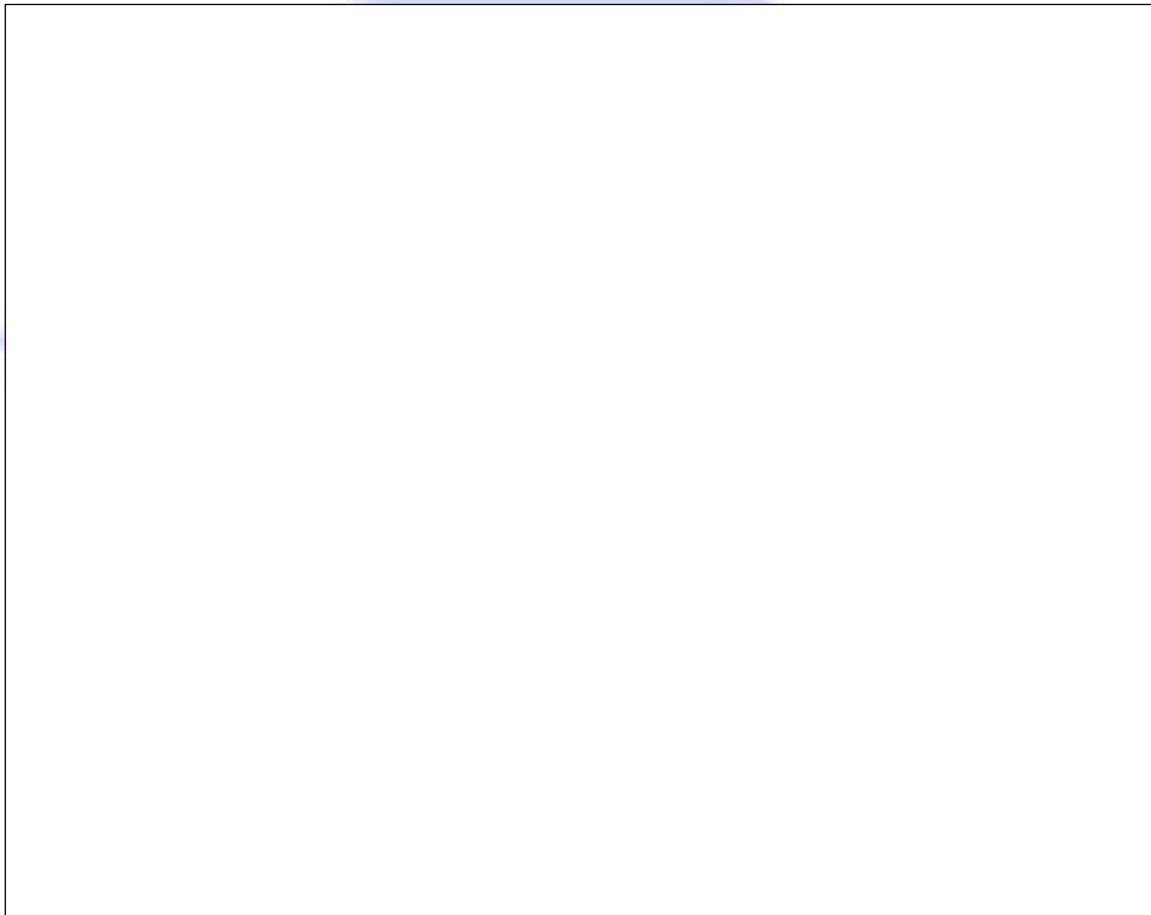
---

---

---

---

5. Realice el diagrama de flujo de producción de biocombustibles a partir de la fermentación de residuos agroindustriales.



	MÓDULO:	BIOPROCESOS	Prof.
	Escuela de Ingeniería agroindustrial		Página 93 de 94

#### ACTIVIDAD 4.

1. Seleccione la opción correcta.

a. **Técnica para separar sólidos en suspensión dentro de un fluido** (líquido o gas), empleando para ello un medio un sólido poroso

- Separación por membranas
- Centrifugación
- Filtración
- Extracción líquido-líquido

b. es una técnica de **deshidratación por frío**, un proceso común en la industria alimentaria conocido como **deshidrocongelación** (secado por congelación) el cual **tiene la virtud de mantener al máximo las propiedades organolépticas de los alimentos**

- Electroforesis
- Cromatografía
- Secado
- Liofilización

c. Permite estudiar las características de sedimentación de estructuras subcelulares (lisosomas, ribosomas y microsomas) y biomoléculas. Usar rotores especiales (fijos o de columpio) y sistemas de monitoreo.

- Destilación
- Centrifugación zonal
- Centrifugación diferencial
- Ultracentrifugación

d. Este tipo de separación asocia la electromigración de los iones, propio de la electroforesis, y los efectos de separación entre fases presentes en la cromatografía

- Cromatografía
- Electroforesis capilar en gel
- Electrocromatografía capilar
- Electroforesis capilar electrocinética micelar (MEKC).

2. Investigar y realizar la metodología de extracción sólido-líquido de aceites esenciales por el método de soxhlet.

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

3. Realice el proceso de digestión anaeróbica del compost