

Programa de BIOPROCESOS I

Carrera/s: *Licenciatura en Biotecnología*

Asignatura: *Bioprocesos I*

Núcleo al que pertenece: *Obligatorio (Ciclo Superior)*¹

Profesores/as: Diego Baruque, Natalia Lorena Rojas, Betina Stephan, José Duhart, Pamela Kikot, Evelyn Wagner

Correlativas previas: *Microbiología general, Bioquímica I (y condiciones de acceso al Ciclo Superior)*

Objetivos:

Que las/os estudiantes conozcan un biorreactor y su modo de operación, aprendan a manejarlo y los fundamentos teóricos de los procesos a desarrollar en él. También, que descubran las ventajas del uso de esta técnica y su aplicación en la industria para el desarrollo del *upstream* (procesos productivos).

Contenidos mínimos:

Procesos biotecnológicos integrados. Ecuación de balance macroscópico como clave para el análisis de procesos celulares y reactores biológicos. Análisis estequiométrico y cinético de procesos de crecimiento celular y formación de productos. Biorreactores: diseño, relación geométrica y modo de operación. Sistemas de cultivo *batch*; *batch* alimentado y quimiostato: diseño y aplicaciones. Introducción al escalado de procesos biotecnológicos y fermentaciones industriales.

Carga horaria semanal:

8 horas

Programa analítico:

PROGRAMA ANALÍTICO:

¹ En plan vigente, Res CS N° 125/19. Para el plan Res CS N° 277/11, pertenece al Núcleo Básico. Para el Plan Res CS N° 181/03 pertenece al Núcleo Obligatorio.

1. Introducción a la Biotecnología. Definición. Breve reseña histórica. Productos y áreas de aplicación. Impacto económico-social. Estrategia de un proceso biotecnológico. Fermentaciones en medios líquidos y sólidos. Productos obtenidos por procesos biotecnológicos, ejemplos.

2. Nutrición microbiana. Macro y micronutrientes, función. Factores de crecimiento, función. Fuentes de C y N usuales. Asimilación de la fuente de N, regulación. Fuentes de uso industrial. Asimilación de S, P, K, Mg. Compuestos usuales, rendimientos. Micronutrientes, requerimientos, funciones. Disponibilidad. Agentes quelantes. Efectos causados por la deficiencia de micronutrientes. Factores de crecimiento, concentraciones usuales, efecto de la deficiencia. Actividad acuosa de los medios. Efecto sobre la velocidad específica de crecimiento. Estabilidad de los medios de cultivo. Reacciones durante la esterilización. Diseño de medios de cultivo, optimización.

3. Estequiometría del crecimiento microbiano. Componentes fundamentales de un medio de cultivo. Fuentes de carbono y energía, fuente de nitrógeno. Rendimiento celular, concepto. Composición elemental de la biomasa microbiana, regularidades. Carbono-mol, definición. Balance macroscópico de carbono. Grado de reducción y grado de reducción generalizada, cálculo, significado. Balance macroscópico de energía. Aplicación de la estequiometría al análisis de un cultivo. Formación de producto, criterios. Rendimientos máximos teóricos, cálculo, significado. Cultivos limitados por carbono y por energía. Efecto de la naturaleza de la fuente de nitrógeno sobre el rendimiento celular.

4. Energética del crecimiento microbiano. Balances de entalpía en procesos aerobios y anaerobios. Calor producido. Balances de energía libre, disipación. Correlación de Heijnen, aplicación al cálculo del rendimiento celular y del rendimiento en producto. Eficiencia energética del crecimiento celular.

5. Biorreactor: Características, diseño, geometría, balances de materia y modos de operación. Tanque agitado con mezclado perfecto. Funcionamiento, balances de materia en fase líquida y gaseosa con reacción química. Modos de operación: Batch (lote), continuo y batch alimentado. Variables de proceso y de operación. Nociones elementales sobre transferencia de oxígeno. Ley de Henry. Factores que afectan la solubilidad del oxígeno. Ecuación de transferencia, coeficiente volumétrico de transferencia, $K_L a$, y fuerza impulsora. Significado. Factores que afectan el $K_L a$, agitación, aireación, viscosidad. Valores de $K_L a$ necesarios para distintos tipos de cultivos microbianos.

6. Cinética.

6.1 Cinética del crecimiento microbiano: Conceptos generales, velocidades volumétricas y específicas. Estudio de la cinética en fase líquida y gaseosa. Fase líquida: Sustrato limitante, concepto. Ecuación de Monod, base mecanística. Constante de saturación, significado, valores usuales. Velocidad específica máxima de crecimiento, efecto del pH, temperatura y composición del medio de cultivo. Valores usuales. Inhibición del crecimiento, competitiva, no competitiva. Toxinas. Inhibición por sustrato y por producto. Expresiones cinéticas. Ecuaciones de Tessier y de Cantois.

6.2 Cinética de consumo de fuente de carbono y energía: Ecuación de Pirt. Coeficiente de mantenimiento y rendimiento verdadero. Significado. Valores usuales. Efecto de la temperatura y presión osmótica sobre el mantenimiento. Variación del rendimiento celular con la velocidad específica de crecimiento. Metabolismo endógeno, Ecuación de Herbert. Modelo unificado. Crecimiento restringido, irrestricto, balanceado. Concepto. Consumo de oxígeno, expresión cinética. Concepto de concentración crítica. Efecto de la limitación de oxígeno sobre el crecimiento. Respuesta fisiológica de los microorganismos a la tensión de oxígeno disuelto.

7. Sistemas de cultivo.

7.1. Batch (cultivo discontinuo o por lote). Balances de materia para biomasa, sustrato y producto. Fases de crecimiento, descripción, causas. Variación de la composición macromolecular. Modelo de Monod. Determinación de los parámetros de crecimiento. Modelos derivados, efecto de: mantenimiento celular, tiempo de retardo, inhibición por sustrato y por producto. Inhibidores competitivos y no competitivos, efecto sobre la cinética. Criterios para determinar la formación de inhibidores del crecimiento. Efecto de la limitación por oxígeno. Consecuencias. Crecimiento en dos fuentes de carbono, distintos casos. Aplicaciones del cultivo batch. Ventajas y limitaciones.

7.2. Cultivo continuo. Balances de materia para biomasa, sustrato y producto. Esquema y generalidades. Estado estacionario. Velocidad de dilución crítica, significado. Limitación por fuente de carbono y energía, y otros nutrientes, diferencias. Variación de la composición macromolecular. Aplicación del cultivo continuo a la determinación de los parámetros fisiológicos de crecimiento (k_s , μ_{max} , m_s , $y'x/s$). Relación entre la velocidad específica con la velocidad de dilución. Relación entre variables cinéticas en cultivo continuo. Criterios para determinar la existencia de estado estacionario; tiempo de retención, otros criterios. Efecto de inhibidores, distintos tipos. Inhibición por sustrato limitante. Estado estacionario estable e inestable. Limitación por oxígeno. Variantes de cultivos continuos. Cultivo continuo perfundido. Aplicación del cultivo continuo al estudio de la fisiología microbiana. Productividad. Ventajas y desventajas.

7.3. Batch alimentado (cultivo discontinuo alimentado). Balances de materia para biomasa, sustrato y producto. Distintos tipos de alimentación, criterios de diseño. Efecto del mantenimiento celular. Estado cuasi estacionario. Control de

la alimentación por oxígeno disuelto, pH, cociente respiratorio, etc. Aplicaciones, Obtención de altas concentraciones celulares y de productos. Estrategia para distintas cinéticas. Ejemplos.

8. Modelos metabólicos. Esquema general del metabolismo, ecuación de síntesis de biomasa. Análisis de flujos metabólicos, balances, intermediarios, matriz estequiométrica, vector de flujos y vector de velocidades. Solución para sistemas redundantes. Aplicaciones al estudio del metabolismo microbiano, determinación del paso limitante. Parámetros intrínsecos del crecimiento: rendimiento en base al ATP y eficiencia de la fosforilación oxidativa, concepto, determinación, Modelo de crecimiento aerobio y anaerobio con formación de producto. Criterio para seleccionar microorganismos apropiados. Expresión de rendimientos y velocidades específicas en función de parámetros intrínsecos.

9. Introducción a conceptos de cambio de escala, objetivos. Criterios físicos. Limitaciones. Simulación en laboratorio de resultados en escala de producción.

Trabajos de Laboratorio:

TP N°1

Título: *Nutrición microbiana.*

Objetivos: Establecer la importancia de distintos nutrientes para el crecimiento microbiano.

Actividades: La experiencia de laboratorio se basa en el seguimiento de la cinética de crecimiento de cultivos de levaduras en distintos medios de cultivo. Cada medio se encuentra formulado para resaltar la importancia de uno de los grupos de nutrientes que se estudian desde los modelos teóricos de crecimiento (fuente de nitrógeno, vitaminas, oxígeno, etc.). El inicio del ensayo se da inoculando todos los medios de cultivo a la misma concentración final de levaduras. Luego se extraen muestras cada 40 minutos y se determina DO_{600nm} y pH.

TP N°2

Título: *Cultivo en Batch.*

Objetivos: Realizar un cultivo en Batch de levaduras en fermentador tipo tanque agitado. Analizar el crecimiento en este tipo de cultivo. Estudiar el comportamiento cinético del microorganismo en Batch y plantear su estequiometría de crecimiento.

Actividades: La experiencia de laboratorio se basa en el desarrollo de un cultivo en Batch desde su inoculación hasta la fase estacionaria. A intervalos de 40 minutos se retira una muestra líquida del fermentador y se registran las lecturas del instrumental del fermentador (analyzer de gases, electrodo de O_2 disuelto, electrodo de pH). A la muestra líquida se le realiza la determinación de peso seco de la biomasa, fuente de carbono en el sobrenadante y DO_{600nm} . Las medidas permiten calcular las velocidades de consumo de reactivos y generación de productos del crecimiento, además de los coeficientes estequiométricos de la ecuación de crecimiento. Con esto parámetros se

plantean los balances de materia y energía para verificar que la ecuación de crecimiento propuesta es correcta.

TP N°3

Título: Cultivo Batch alimentado.

Objetivos: Realizar un cultivo en Batch Alimentado de levaduras en fermentador tipo tanque agitado. Analizar el crecimiento en este tipo de cultivo. Estudiar el comportamiento cinético del microorganismo en Batch alimentado y plantear su estequiometría de crecimiento.

Actividades: La experiencia de laboratorio se basa en el desarrollo de un cultivo en Batch alimentado durante toda la etapa de alimentación. A intervalos de 40 minutos se retira una muestra líquida del fermentador y se registran las lecturas del instrumental del fermentador (analizador de gases, electrodo de O₂ disuelto, electrodo de pH). A la muestra líquida se le realiza la determinación de peso seco de la biomasa, fuente de carbono en el sobrenadante y DO_{600nm}. Las medidas permiten calcular las velocidades de consumo de reactivos y generación de productos del crecimiento, además de los coeficientes estequiométricos de la ecuación de crecimiento. Con esto parámetros se plantean los balances de materia y energía para verificar que la ecuación de crecimiento propuesta es correcta.

Bibliografía

- Principes of microbes and cell cultivation. J. Pirt.
- Energetics and kinetics in Biotechnology. J. A. Roels
- Principios de ingeniería en Bioprocesos. P. Doran.
- Comprehensive Biotechnology. Murray Moo-Young.
- Bioprocess Engineering: Basic Concepts. M. Shuler

La bibliografía que no se encuentra en la Biblioteca de la UNQ es suministrada por los docentes, ya sea porque se dispone de las versiones electrónicas y/o se dispone del ejemplar en el grupo de investigación asociado.

Organización de las clases:

La materia consta de clases teóricas, seminarios de problemas y trabajos experimentales. Luego de cada trabajo práctico se deberá presentar un informe con los cálculos y conclusiones correspondientes.

Modalidad de evaluación:

Se tomarán 2 exámenes escritos (que incluyen los temas de la teoría y de los seminarios de problemas), junto a sus correspondientes jornadas de recuperación, y además se deberá entregar un informe luego de cada trabajo de laboratorio, los cuales recibirán calificación, y se tomará un examen práctico, con su correspondiente jornada de recuperación.

Aprobación de la asignatura según Régimen de Estudios vigente de la Universidad Nacional de Quilmes:

La aprobación de la materia bajo el régimen de regularidad requerirá: Una asistencia no inferior al 75 % en las clases presenciales previstas, y cumplir con al menos una de las siguientes posibilidades:

- (a) la obtención de un promedio mínimo de 7 puntos en las instancias parciales de evaluación y de un mínimo de 6 puntos en cada una de ellas.
- (b) la obtención de un mínimo de 4 puntos en cada instancia parcial de evaluación y en el examen integrador, el que será obligatorio en estos casos. Este examen se tomará dentro de los plazos del curso.

Los/as alumno/as que obtuvieron un mínimo de 4 puntos en cada una de las instancias parciales de evaluación y no hubieran aprobado el examen integrador mencionado en el Inc. b), deberán rendir un examen integrador, o en su reemplazo la estrategia de evaluación integradora final que el programa del curso establezca, que el cuerpo docente administrará en los lapsos estipulados por la UNQ.

Modalidad de evaluación exámenes libres:

En la modalidad de libre, se evaluarán los contenidos de la asignatura con un examen escrito, un examen oral e instancias de evaluación similares a las realizadas en la modalidad presencial. Los contenidos a evaluar serán los especificados anteriormente incluyendo demostraciones teóricas, laboratorios y problemas de aplicación.

CRONOGRAMA TENTATIVO

Seman a	Tema/unidad	Actividad*				Evaluación
		Teórico	Práctico			
			Res Prob.	Lab.	Otros	
1	Introducción / Estequiometría de Crecimiento/ Nutrición Microbiana	X		X		
2	Estequiometría de Crecimiento/ Energética de Crecimiento	X	X			
3	Introducción a los Biorreactores y Cinética de crecimiento / Energética	X	X			
4	Cinética de crecimiento / Transferencia de Oxígeno	X				
5	Cultivo en Batch	X	X			
6	Cultivo en Batch con limitación en oxígeno	X	X			
7	Cultivo continuo / Cultivo en Batch	X		X		
8	Cultivo continuo	X	X			
9	Primer parcial Teórico práctico/ Batch alimentado	X				X
10	Recuperatorio primer parcial					X
11	Batch Alimentado	X	X			
12	Energética de crecimiento II /Batch Alimentado	X		X		
13	Energética de crecimiento II/ Escalado	X	X			
14	Escalado /Discusión de Trabajos Prácticos / Clase de consultas		X		X	
15	Clase de Consultas / Segundo parcial teórico práctico				X	X
16	Clase de consultas / Parcial de trabajos Prácticos				X	X
17	Recuperatorio Segundo parcial					X
18	Examen integrador					X