

Programa de BIOPROCESOS II

Carrera/s: *Licenciatura en Biotecnología*

Asignatura: *Bioprocesos II*

Núcleo al que pertenece: *Complementaria Obligatoria (Ciclo Superior de la Orientación Bioprocesos); Complementaria Adicional (Ciclo Superior de la Orientación Genética Molecular)¹*

Profesores/as: Natalia Lorena Rojas, José Duhart, Evelyn Wagner

Correlatividades previas: *Bioprocesos I*

Objetivos:

- Que el/la estudiante profundice conocimientos teóricos que fundamentan el diseño de equipamiento y parámetros tecnológicos implicados en procesos de producción industrial.
- Que el/la estudiante logre implementar el manejo de datos experimentales para la utilización de material biológico con fines productivos.
- Que las/os estudiantes adquieran una mentalidad estratégica para diseñar e implementar racionalmente procesos de producción de insumos biotecnológicos a diferentes escalas.

Contenidos mínimos:

Fundamentos del diseño de biorreactores para aplicaciones industriales. Relación entre variables biológicas e ingenieriles. Transferencia de materia. Restricciones por difusión. Fenómenos de transporte. Reología en procesos biotecnológicos. Reactores ideales: mezcla completa. Flujo pistón. Flujo no ideal: Dispersión, distribución de edades. Diseño de reactores para células inmovilizadas. Escalamiento de procesos: *scale-up*, *scale-down*. Esterilización: discontinua y continua, cálculo de ciclos térmicos de esterilización. Introducción

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

al control automático. Procesos biotecnológicos de células eucariotas. Aplicación al diseño de procesos a escala industrial.

Carga horaria semanal:

8 horas

Programa analítico:

1- Introducción a los procesos biotecnológicos, operaciones previas (*upstream*) y operaciones posteriores (*downstream*). Inconvenientes que surgen al aumentar la escala de trabajo.

2- Nociones sobre fenómenos de transporte. Transporte de calor, cantidad de movimiento y de materia. Implicancia en los bioprocesos.

3- Transferencia de materia, definición del coeficiente de transferencia y de la fuerza impulsora. Grupos adimensionales relacionados. Convección natural y forzada. Difusión. Transferencia gas – líquido, modelo de la doble película, coeficientes globales. Etapa controlante y diseño del biorreactor. Ecuación de transferencia, coeficiente volumétrico de transferencia, KLa , y fuerza impulsora. Métodos de determinación del KLa en estado estacionario y dinámico. Técnica del sulfito en *batch*, inconvenientes. Técnica del sulfito en sistema alimentado. Métodos por balance gaseoso. Métodos dinámicos: *gassing-out*. Ventajas y desventajas de cada uno.

4- Transmisión de calor. Mecanismos de transmisión de calor, conducción. Combinación de resistencias térmicas en serie. Capas límites térmicas. Coeficiente global de transmisión de calor. Equipamientos. Cálculo de coeficientes de transmisión de calor. Aplicaciones en Bioprocesos.

5- Reología, viscosidad, Ec. de Newton, fuerza de corte y velocidad de corte. Efecto de la concentración celular sobre la viscosidad ecuaciones de Einstein y de Vand. Fluidos no newtonianos, distintos tipos, viscosidad aparente. Cultivos newtonianos y no newtonianos, ejemplos. Viscosímetro de rodete y de cilindro coaxial.

6- Biorreactores agitados neumáticamente: Air–lift, principio de funcionamiento. Relaciones geométricas. Volumen de gas disperso, velocidad superficial del gas y velocidad del líquido. Correlaciones. Determinación del coeficiente de transferencia gas líquido y del área de transferencia. Diámetro máximo estable de burbuja, tamaño medio de burbujas en líquidos coalescentes y no coalescentes. Correlaciones para determinar KLa . Aplicaciones.

7- Biorreactores agitados mecánicamente: Tanque agitado. Relaciones geométricas. Materiales de construcción. Agitadores, distintos tipos. Número de potencia. Cálculo de la potencia para líquidos gaseados y no gaseados en régimen turbulento. Sellos de vapor, inoculación de un tanque a escala industrial. Patrones de flujo para distintos agitadores. Correlaciones para determinar KLa ,

inconvenientes. Introducción al control automático. Sensores. Controles ON/OFF y PID.

8- Reactor tubular con flujo pistón. Funciones pulso y escalón. Reactor tubular con dispersión axial. Coeficiente de dispersión axial, significado, número de Peclet. Evaluación a partir de datos experimentales

9- Mezclado, mecanismos, teoría de Kolmogorov. Tiempo de mezclado, tiempo de circulación. Distribución de tiempos de residencia, función pulso y función escalón, relación. Comparación entre biorreactor ideal y real. Efecto sobre la productividad del proceso.

10-Cinética en Bioprocesos. Cálculo de productividad para reacciones con cinéticas de orden cero y orden uno en biorreactor de mezclado total y con flujo pistón. Efecto del alejamiento del comportamiento ideal. Selección del tipo de reactor para cinéticas tipo Michaelis – Menten, con inhibición por sustrato y por producto.

11-Cambio de escala, objetivos y diseño. Criterios físicos: potencia por unidad de volumen, tiempo de circulación, de mezclado, velocidad de corte, Reynolds, KLa. Análisis de régimen, tiempos característicos, comparación, implicancias. Scale-down., Simulación en laboratorio de resultados en escala de producción.

12-Reactores con células o enzimas inmovilizadas. Objetivos de la inmovilización. Descripción de métodos de inmovilización. Unión covalente, entrecruzamiento, atrapado en geles. Distintos tipos de reactores. Aplicaciones. Materiales usuales.

13- Reacciones heterogéneas. Difusión intrapartícula con reacción química, balance microscópico para geometría esférica, análisis del perfil para cinéticas de orden uno y cero (saturante). Velocidades observables, módulo de Thiele para distintas geometrías, factor de efectividad interno. Módulo de Thiele observable, criterios de Weisz. Transferencia de materia externa, modulo observable, factor de efectividad externo para distintas cinéticas. Correlaciones para el cálculo del coeficiente de transferencia de materia externa para lechos empaquetados. Factor de efectividad total. Ejemplos.

14- Cultivo de células animales. Característica de los biorreactores. Cultivo sobre *microcarriers* y en suspensión. Modos de operación. Estrategias de escalado. Modelos de crecimiento de células animales. Instalaciones y equipamiento. Calidad del agua, aire estéril, filtros HEPA. Requerimientos para el desarrollo del cultivo celular. Medios de cultivo, composición básica, tipos de medio. Metabolismo en células cultivadas. Estrategias para el control y la optimización del crecimiento y la producción celular. Control de calidad. Aplicaciones biotecnológicas de los cultivos celulares. Producción de anticuerpos monoclonales, de moléculas bioactivas, de vacunas virales, procesos de purificación. Sistemas de producción *single use*. Aplicación en procesos industriales,

15- Obtención de productos. Estrategia global para la producción. Clasificación. Productos finales del metabolismo energético. Estequiometría, máximos teóricos. Cinética, ecuación de *Luedeking y Piret*, deducción, significado. Microorganismos apropiados para su obtención. Sistemas de cultivo empleados. Metabolitos secundarios. Esquema general del metabolismo secundario. Estequiometría. Regulación por N, P. Efecto de la velocidad específica de crecimiento sobre la síntesis. Sistemas de cultivo empleados para su producción. Productos de alto peso molecular. Clasificación, ejemplos. Enzimas intra y extracelulares. Aplicación a la obtención de productos de interés por microorganismos recombinantes. Cultivo *batch*, *batch* alimentado y continuo, estrategias. Producción de productos recombinantes de interés farmacéutico. Producción de insumos agrícolas y de la industria alimentaria. Efecto de las condiciones de cultivo sobre la síntesis y producción.

Trabajos prácticos de laboratorio

- TP N°1

“Determinación del coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno K_La ”.

Objetivo: Determinar el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno para distintos sistemas de cultivo y compararlos.

La experiencia de laboratorio se basa en la medida de la velocidad de consumo de oxígeno en Erlenmeyer y fermentador (a distintas velocidades de agitación). Para ello se hace uso de una reacción química donde el oxígeno en solución es el reactivo limitante (método de Cooper). Esto establece una velocidad de reacción constante que es determinada de manera indirecta por variación en la composición de los gases de entrada y salida mediante un analizador de gases, en el caso del fermentador tipo tanque agitado. Para los Erlenmeyer se realizan tomas de muestra a intervalos de 30 minutos y se determina la cantidad de O_2 consumido indirectamente, mediante iodometría. Utilizando las ecuaciones derivadas del modelo de la película para transferencia de materia, los alumnos calculan el K_La a partir de la velocidad de consumo medida.

TP N°2

“Determinación de K_La por método de Sulfito Alimentado”.

Objetivo: La implementación de un método alternativo al de Sulfito convencional, la corroboración de su eficacia para detectar cambios del K_La asociados a variables conocidas (RPM, geometría del fermentador, etc.), y su comparación con el método original.

En el desarrollo del TP, la/os alumna/os participan en el armado, conexión y puesta en funcionamiento del fermentador. Se lleva a cabo la medición del K_La mediante la alimentación de Sulfito al mismo, en distintas condiciones de agitación y de geometría del reactor. Se realizan mediciones de O_2 disuelto y de O_2 de salida *on-line*, se controla el pH de la planta, y se toman los datos necesarios para el cálculo del K_La .

- TP N°3

“Esterilización”.

Objetivo: Determinar experimentalmente el perfil de calentamiento y enfriamiento de un ciclo de esterilización por calor húmedo a fin de calcular el tiempo de retención a 121°C. En este TP se caracteriza la curva de calentamiento y enfriamiento de un esterilizador por calor húmedo de escala laboratorio. El análisis de esos perfiles, en el marco del modelo de cinética de destrucción de primer orden, permite el cálculo de constantes promedio para las etapas de calentamiento y el enfriamiento de un ciclo de esterilización, y el análisis de la muerte celular en dichas etapas. Se comparará los resultados obtenidos con otros métodos de aproximación, como el de Nablas.

- TP N°4

“Determinación de tiempo de mezclado en biorreactores”.

Objetivo: Determinar el tiempo de mezclado de un fermentador de escala laboratorio. Mediante la utilización de trazadores ácidos y básicos, se caracteriza el tiempo de mezclado de un fermentador escala laboratorio. Se ensaya el efecto de diferentes condiciones de agitación y geometría del reactor.

- TP N°5

“Determinación del comportamiento de una columna”.

Objetivo: Determinar experimentalmente el tiempo de retención medio y el módulo de dispersión.

Se emplea un reactor tubular empaquetado para caracterizar parámetros fundamentales que describen el comportamiento del flujo del líquido en la misma. Mediante trazadores ácidos y básicos, se realizan mediciones que permiten calcular el tiempo de residencia medio, el número de Peclet y el coeficiente de dispersión axial del reactor. Se ensayan distintas condiciones de caudal y de empaquetado, a modo de evidenciar los efectos de estas variables en el comportamiento de la columna.

TP N°6

“Biocatalizadores inmovilizados”.

Objetivo: Optimizar un sistema de biocatalización en portadores de alginato.

En el TP se estudia los efectos del caudal de alimentación y de la concentración de sustrato en un sistema de biocatalizadores inmovilizados, a modo de encontrar la condición óptima de productividad y conversión de sustrato. El desarrollo del TP incluye la inmovilización de los biocatalizadores, los ensayos de operación del reactor tubular, el testeo de las diferentes condiciones, y la cuantificación del producto.

Bibliografía (*obligatoria y de consulta*):

1. Doran, Pauline M. Principios de ingeniería de los Bioprocesos.
2. Bailey, James E. and Ollis, David F. Biochemical engineering fundamentals.
3. Kargi, F. and Moo. Young, M. Transport Phenomena in bioprocesses

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 asignatura consta de clases teóricas, seminarios de problemas y trabajos experimentales. Las clases teóricas están coordinadas con los trabajos prácticos y las clases de seminario de forma tal de que los conceptos adquiridos en las primeras se fijen mediante la práctica.

Tomando en cuenta el perfil del/la estudiante al momento de cursar Bioprocesos II, el proceso dinámico de formación y enseñanza de esta propuesta pedagógica requiere de un alto nivel de participación. Por este motivo, se estimulará la participación de esta/os por medio de trabajos prácticos y seminarios de problemas, en los que además de conceptos básicos de los bioprocesos, la/os alumna/os serán capaces de interpretar la realidad de los procesos de producción en biotecnología a distintas escalas de trabajo.

Las actividades se diseñan específicamente para cada una de las clases, articulándose los contenidos de cada una de las unidades propuestas de manera progresiva.

Modalidad de evaluación:

La evaluación de la asignatura se realiza en forma escrita. Durante el transcurso de la cursada se toman dos exámenes parciales que involucran temas correspondientes a las clases teóricas y en las clases de seminario, y al final de la cursada se toma un examen integrador que abarca a todo el contenido de la materia, tanto teórico como práctico. Por último, la/os alumna/os deberán realizar un trabajo de investigación acerca de la producción de un producto biotecnológico, desarrollándolo en formato de monografía, donde apliquen los conceptos adquiridos en el transcurso de la materia.

La composición de la nota final será producto de una ponderación porcentual de los parciales teóricos prácticos (80%); Informes de laboratorio (10%) y trabajo monográfico (10%).

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

Semana	Tema/unidad	Actividad*				Evaluación
		Teórico	Práctico			
			Res Prob	Lab.	Otros Especificar	
1	Introducción a los procesos biotecnológicos	X				
2	Nociones sobre fenómenos de transporte. Transferencia de materia Métodos de determinación del KLa.	X		X		
	Transmisión de calor	X	X			
3	Esterilización/ Cálculo de ciclos térmicos de esterilización	X	X	X		
4	Reactores para esterilización continua	X	X			
6	Reología	X				
7	Biorreactores agitados neumáticamente / Biorreactores agitados mecánicamente	X				
8	Mezclado	X		X		
9	Reactores no ideales	X	X			
10	Primer parcial teórico práctico/ Recuperatorio					X
11	Reactor tubular con flujo pistón	X		X		
12	Reactores con células o enzimas inmovilizadas en carriers/ Enzimas o células entrampadas en geles.	X		X		
13	Reacciones heterogéneas		X			
	Obtención de Productos	X				
14	Cambio de escala	X	X			
15	Cultivo de células animales	X				
16	Segundo parcial teórico práctico/ Recuperatorio	X				
17	Exposición de Monografías Visita a planta Industrial				X	X
18						X

