

PROGRAMA DE PRODUCCIÓN POR FERMENTADORES

Carrera: Tecnicatura Universitaria en Biotecnología.

Asignatura: Producción por fermentadores.

Núcleo al que pertenece: Núcleo avanzado obligatorio.

Profesora: Dra. Silvia Soto Espinoza.

Prerrequisitos: Bioquímica y Fundamentos de biología celular y molecular.

Objetivos:

Son objetivos específicos que quienes cursen esta asignatura logren:

- Integrar los conocimientos adquiridos durante su formación.
- Aplicar los conceptos asociados a la producción de biomasa y síntesis de proteínas, de interés para la industria y/o la investigación.
- Comprender el modelo teórico que sustenta el estudio del crecimiento de biomasa y sea capaz de realizar un análisis estequiométrico, energético y cinético de un bioproceso, de manera teórica y experimental.
- Sea capaz de diseñar, realizar experimentalmente y analizar un bioproceso.

Contenidos mínimos: Relación entre variables biológicas e ingenieriles (reactores). Proceso biotecnológico integrado: upper stream, producción propiamente dicha, downstream. Influencia de las variables genéticas en etapas de no producción. Ecuación de balance macroscópico como clave para el análisis de los procesos celulares y los reactores biológicos. Relación geometría/reactor. Modo de operación. Análisis cinético de procesos de crecimiento celular y formación de productos. Análisis estequiométrico de los procesos biotecnológicos. Aplicaciones del quimiostato/auxostato a la investigación genética, fisiológica e industrial. Introducción a la ingeniería de control metabólico. Aplicaciones de modelos en biología molecular. Modelos estructurados y segregados. Optimización de procesos.

Carga horaria semanal: 6 hs

PROGRAMA ANALÍTICO:

Unidad 1: Introducción a la Biotecnología.

Definición. Breve reseña histórica. Productos y áreas de aplicación. Estrategia de un proceso biotecnológico. Fermentaciones en medios líquidos y sólidos. Productos obtenidos por procesos biotecnológicos, ejemplos. Producción de polisacáridos, etanol, acetona-butanol.

Unidad 2: 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.

Unidad 3: 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. Osmotolerancia y hofilia. Estabilidad de los medios de cultivo. Reacciones durante la esterilización. Diseño de medios de cultivo, optimización. Método de los pulsos.

Unidad 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.

Unidad 5: Cinética del crecimiento microbiano

Conceptos generales, velocidades volumétricas y específicas. Estudio de las cinéticas en fase líquida y gaseosa.

6-1: 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. 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.

Unidad 6: Biorreactor:

Características, 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.

6-1: Fase gaseosa.:

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_{La} , agitación, aireación, viscosidad, etc. Valores de K_{La} en distintos sistemas. Valores necesarios para distintos tipos de cultivos microbianos.

Unidad 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 de crecimiento. Variación de las velocidades específicas con la velocidad de dilución. Casos particulares, ej.: Efecto Crabtree. 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. Efecto de las perturbaciones, estados transitorios. Efecto de crecimiento sobre pared, flotación, etc. Cultivos mixtos. Posibilidad de coexistencia de dos especies. Aplicación del cultivo continuo al estudio de la fisiología microbiana. Productividad. Ventajas y desventajas. Cultivo continuo con reciclo. Ventajas y aplicaciones.

7-3. Batch Alimentado (cultivo discontinuo alimentado). Balances de materia para biomasa, sustrato y producto. Distintos tipos de alimentación, criterio para diseñarla. 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.

Unidad 8: Obtención de Bioproductos.

Productos formados por los microorganismos, clasificación Estrategia global para la producción. Efecto de la velocidad específica de crecimiento sobre la síntesis. Sistemas de cultivo. Ejemplos. Productos de bajo y alto peso molecular. Clasificación, ejemplos. Enzimas intra y extra celulares. Modelo de cinética de formación basado en mecanismos moleculares.

8-1. Estudio de la elaboración de cerveza. Estrategia global para la producción. Sistemas de cultivo.

8-2. Producción de productos de interés por microorganismos recombinantes. Cultivo Batch, continuo y Batch Alimentado, estrategias. Uso de mutantes. Efecto de las condiciones de cultivo sobre la producción.

Bibliografía:

Principios de Ingeniería de los Bioprocesos; P. Doran (660.63).

Principles of microbe and cell cultivation; J. Pirt.

Organización de las clases:

Horario y Reglamento de cursada

Las clases de carácter teórico, tendrán una duración de 2 horas y aquellas de carácter práctico tendrán una duración de 4 horas, los días de práctico se alternarán con teoría, con la realización de seminarios y de trabajos prácticos.

Los contenidos serán desarrollados de acuerdo al cronograma de la asignatura.

- La participación en los seminarios y laboratorios es obligatoria.
- La materia se dará por aprobada luego de rendir en forma satisfactoria 2 exámenes basados en los conceptos teóricos-prácticos que se dicten, la calificación se realizará sobre 10 puntos. Un ausente equivale a una calificación de 0 puntos. En el primer examen están incluidos los seminarios de Estequiometría del crecimiento, Energética del crecimiento I, Sistemas de cultivo I y transferencia de O₂ y la teoría correspondiente.

En el segundo examen están incluidos los seminarios de sistemas de cultivo (cultivo continuo y Batch alimentado) y obtención de bioproductos, junto con la teoría correspondiente.

- Los mecanismos de evaluación en modalidades libre y presencial de esta asignatura están reglamentados según Régimen de estudios vigente de la UNQ (Res. CS 201/18)

- La promoción se obtiene con un promedio de 7/10 entre los 2 exámenes parciales y un puntaje superior a 6/10. La desaprobación o ausencia en los parciales implicará la pérdida de la posibilidad de promoción.
- Los exámenes se aprueban con un puntaje mínimo de 4/10 que se obtiene con un 60% de los temas aprobados, contando con una fecha de recuperación para cada examen.
- Quienes no promocionan deben rendir un examen integrador a fin del cuatrimestre y se aprueba con más de 5 puntos.
- Si se reprueba el examen integrador a fin del cuatrimestre, tienen 2 posibilidades más para rendir nuevamente, durante el transcurso del cuatrimestre inmediato siguiente.

Considerando los regímenes de aprobación la asignatura se calificará y se completará el acta, según la situación de el/la estudiante.

- **Ausente:** en caso de abandonar la cursada sin agotar las instancias de evaluación.
- **Desaprobado:** Nota menor a 4 (cuatro), en caso de desaprobación de todas las instancias de evaluación.
- **Pendiente de Aprobación:** Para el/la estudiante que cumpla con los requisitos de aprobación de la materia. Si aprueban, de 4 a 10 puntos, les quedará pendiente la realización de un (1) trabajo práctico experimental integrado; que se realizarán cuando el Ministerio de Salud y la UNQ permitan desarrollar actividades presenciales. Posterior a la realización de esta actividad (pendiente), si el/la estudiante cumple con las consignas solicitadas se calificará y se

completará el acta con **Aprobado**, con una calificación de 4 a 10 puntos.

- Para cada trabajo práctico realizado se deberá presentar un informe con el análisis correspondiente. El informe se presentará en formato digital a los 15 días de haberlo realizado.
- La nota final de la materia resultará del promedio ponderado de la nota seminarios (10%), informes (20%) y los exámenes integradores (70%).
- **Sera condición de aprobación de la materia, cumplir con las condiciones de la parte práctica.**

- La parte práctica de la materia consta de 7 seminarios y 4 trabajos prácticos. La realización de los seminarios y trabajos prácticos son obligatorios.

- Cada trabajo práctico será evaluado mediante un informe grupal, que deberá ser entregado en la fecha designada por el/la instructor/a.

- En el caso de un informe desaprobado, la persona estudiante tendrá una oportunidad de re-entrega, en la fecha establecida por el cuerpo docente.

- La entrega tardía de los informes se penalizará con una disminución de la nota final. No se aceptarán informes pasadas dos semanas de la fecha de entrega.

Consideraciones generales de cursada

Es responsabilidad de quienes cursen la asignatura cumplir con las siguientes sugerencias durante la cursada:

- Puntualidad en clases de consulta y de actividades prácticas.
- Contar con una carpeta de la materia para reunir todo el material necesario de la asignatura.
- Plantear y resolver las consignas que le serán brindadas.
- Interaccionar mediante el campus, con sus pares y el cuerpo docente.
- Comunicar a quienes están a cargo del dictado de clases cada eventualidad o situación que surja en el transcurso de la cursada.

Cronograma tentativo

Semana	Tema/Unidad	Actividad			Evaluación
		Teórico	Práctico		
			Seminar io.	Labora torio	
1	U1: Introducción U2: Estequiometría del crecimiento microbiano	X			
2	U2: Estequiometría del crecimiento microbiano. U3: Nutrición microbiana.	X	X		
3	U4: Energética de crecimiento	X	X		
4	U5: Cinética del crecimiento microbiano	X		X	
5	U6: Biorreactor. U6-1: Transferencia de oxígeno	X	X		
6	U7-1: Sistema de cultivo I.	X	X		
7	U7-1: Sistema de cultivo I.			X	
8					Primer Parcial
9					Recuperatorio
10	U7-2: Sistema de cultivo II.	X			
11	U7-2: Sistema de cultivo II.		X	X	
12	U7-3: Sistema de cultivo III.	X	X		
13	U8: Obtención de Bioproductos.	X	X		
14	U8-1: Obtención de Bioproductos-	X	X		

	Elaboración de Cerveza				
15	U8-2: Obtención de Bioproductos-Producción de proteínas recombinantes	X			
16					Segundo examen
17					Recuperatorio
18					Integrador