

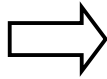
Unidad 2 Cinética de Fermentaciones

2.1.- DETERMINACION DE LA CONCENTRACION CELULAR

OBJETIVO *Cuantificación de células a través del tiempo*

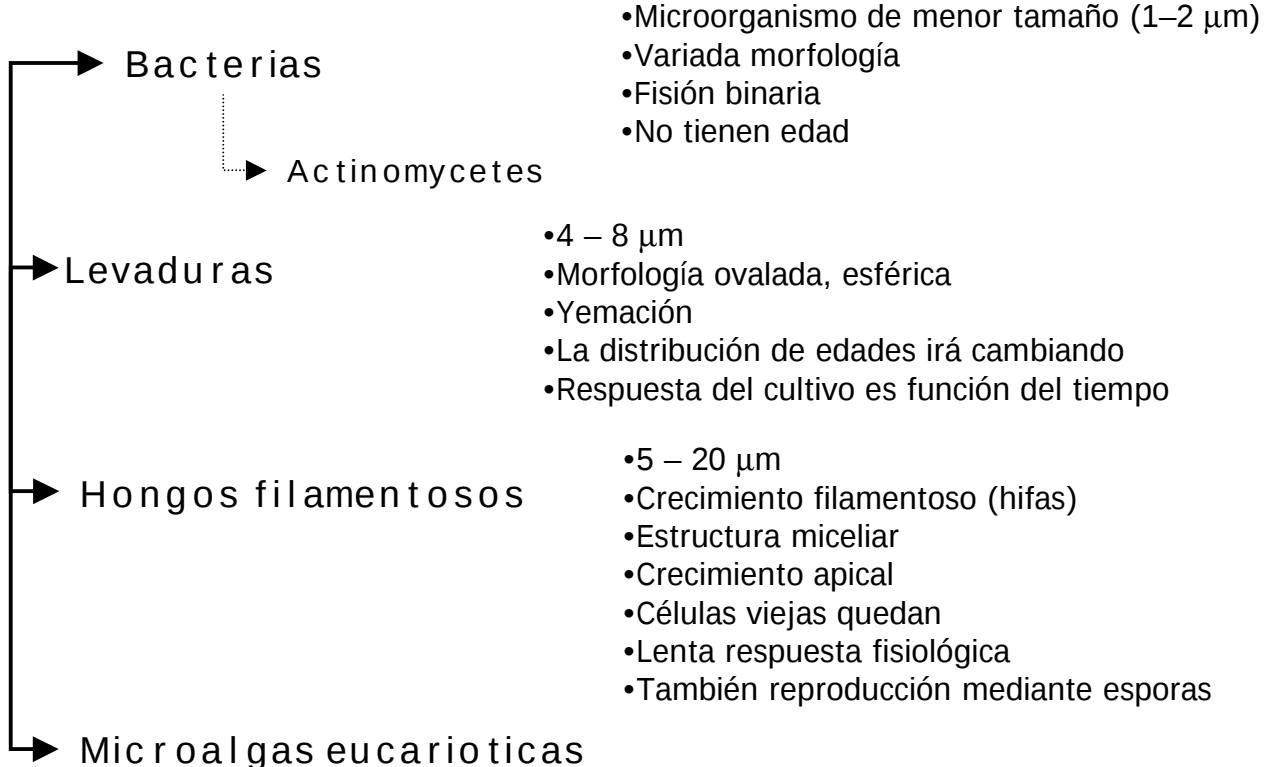
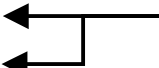
 **Cinética de crecimiento**

¿ De qué células hablamos ?

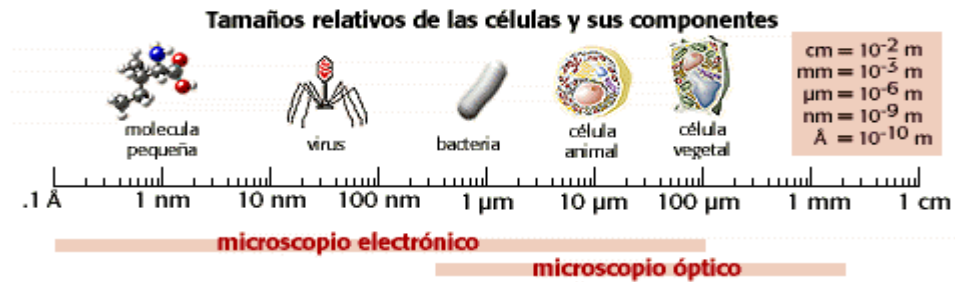


- ✓ Bacterias
- ✓ Levaduras
- ✓ Hongos filamentosos (mohos)
- ✓ Microalgas

Economía celular **OPTIMIZACION**
Funcionamiento anormal



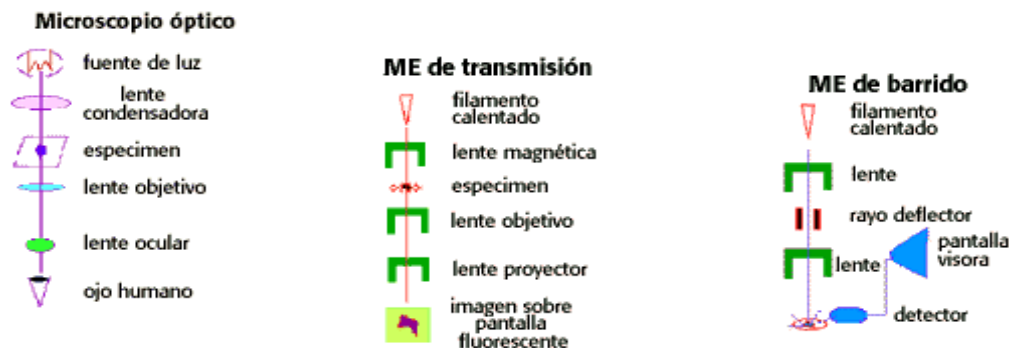
Tamaños de células, virus, y otras cosas pequeñas La biología es un área muy rica visualmente. Sin embargo muchas de las estructuras y eventos biológicos más interesantes son más pequeños de lo que el ojo humano puede ver sin ayuda. En realidad el ojo humano tiene una resolución de cerca de 100 μm . En el cuadro de abajo note que de todas las estructuras listadas, solamente la célula vegetal está escasamente dentro de nuestra resolución



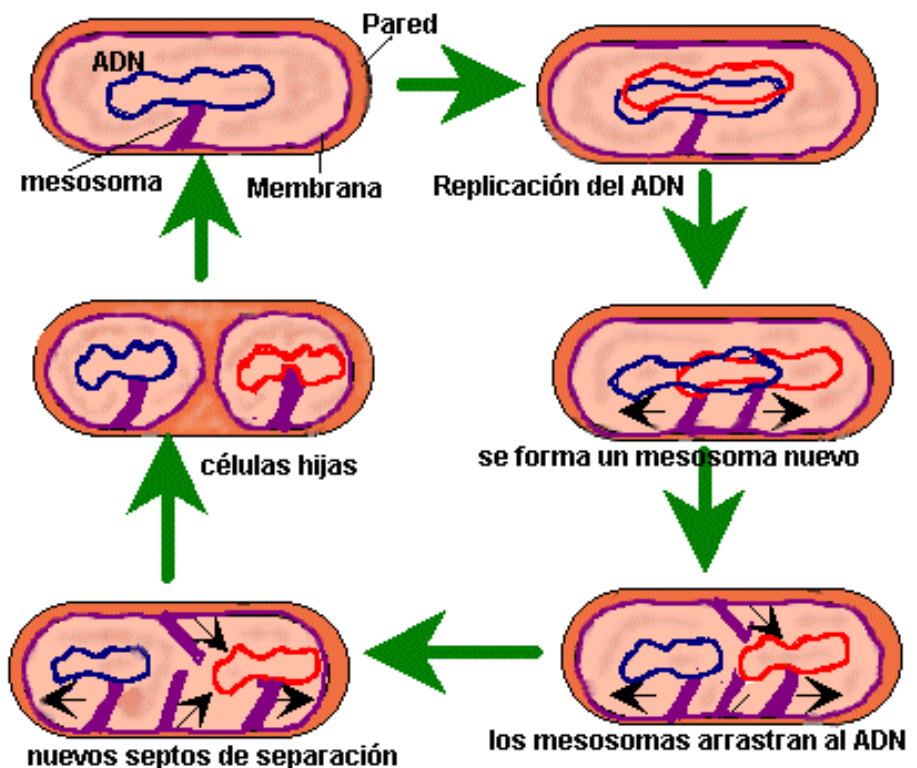
El Microscopio optico El microscopio optico tiene un limite resolución de cerca de 200 nm (0.2 μm). Este limite se debe a la longitud de onda de la luz (0.4-0.7 μm). Las celulas observadas bajo el microscopio optico pueden estar vivas o fijadas y teñidas.

El Microscopio Electronico de Transmisión(MET) El microscopio electronico de transmisión (MET) tiene un limite de resolución de cerca de 2 nm. Esto es debido a limitaciones del lente usado para enfocar electrones hacia la muestra. Un MET mira a replicas de celulas muertas , despues de haber sido fijadas y teñidas con iones de metales pesados. Los electrones son dispersados cuando pasan a traves de una fina sección del especimen, y luego detectados y proyectados hacia una imagen sobre una pantalla fluorescente

El Microscopio Electronico de Barrido (MEB) El microscopio elctronico de barrido (MEB) tambien tiene un limite de 2nm. Al igual que el MET, el MEB permite mirar a celulas muertas, despues de haber sido fijadas y teñidas con iones de metales pesados. Con esta tecnica los electrones son reflectados sobre la superficie del especimen.



Generalmente las bacterias se reproducen por **bipartición**, como se ve en el siguiente esquema:

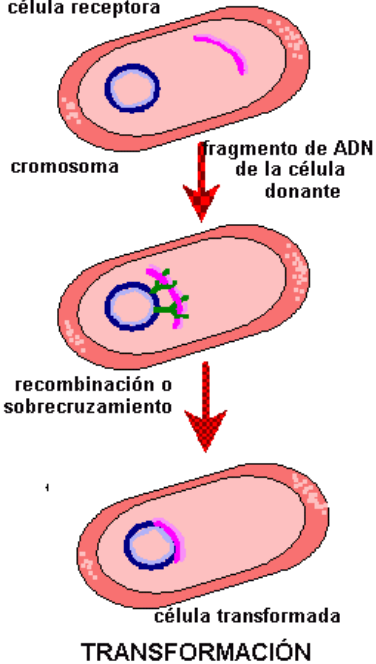


Tras la duplicación del ADN, que esta dirigida por la ADN-polimerasa que se encuentra en los mesosomas, la pared bacteriana crece hasta formar un tabique transversal separador de las dos nuevas bacterias. Pero además de este tipo de **reproducción asexual**, las bacterias poseen unos mecanismos de **reproducción sexual o parasexual**, mediante los cuales se intercambian fragmentos de ADN .

Puede realizarse por :

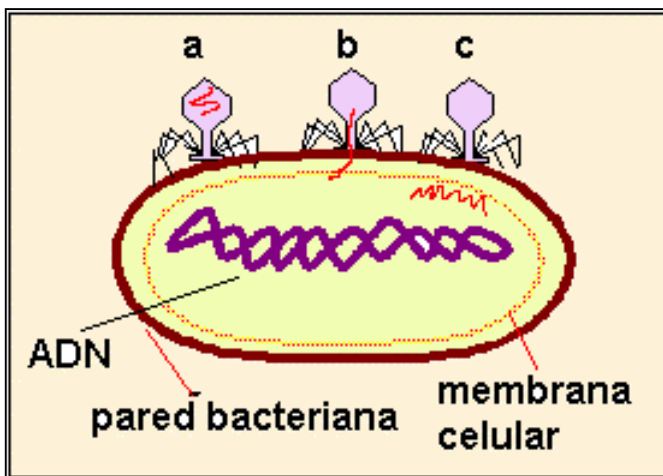
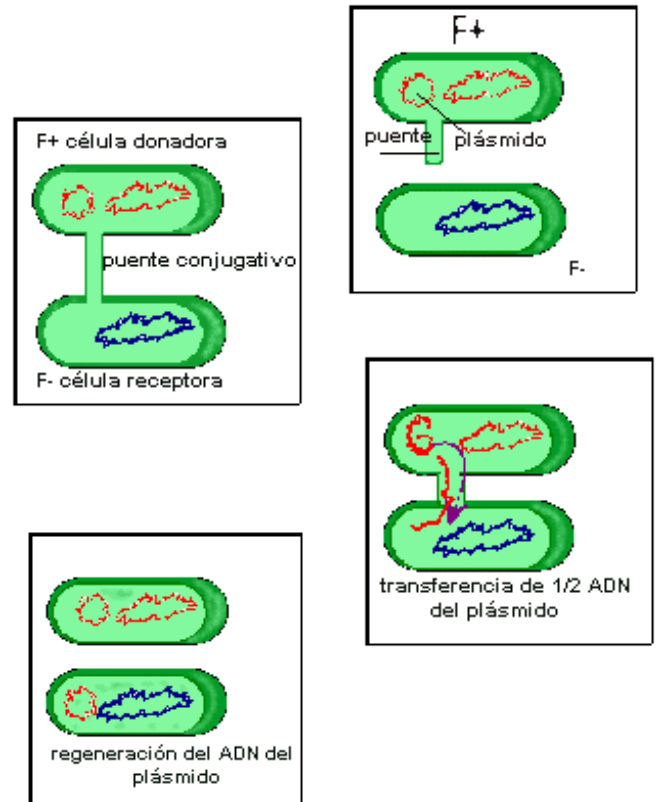
- ✚ Transformación
- ✚ Conjugación
- ✚ Transducción

célula receptora



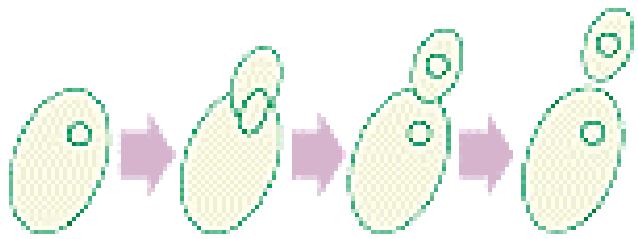
TRANSFORMACION: Consiste en el intercambio genético producido cuando una bacteria es capaz de captar fragmentos de ADN, de otra bacteria que se encuentran dispersos en el medio donde vive.

CONJUGACIÓN: En este proceso, una bacteria donadora F+ transmite a través de un puente o pili, un fragmento de ADN, a otra bacteria receptora F-. La bacteria que se llama F+ posee un **plásmido**, además del cromosoma bacteriano.

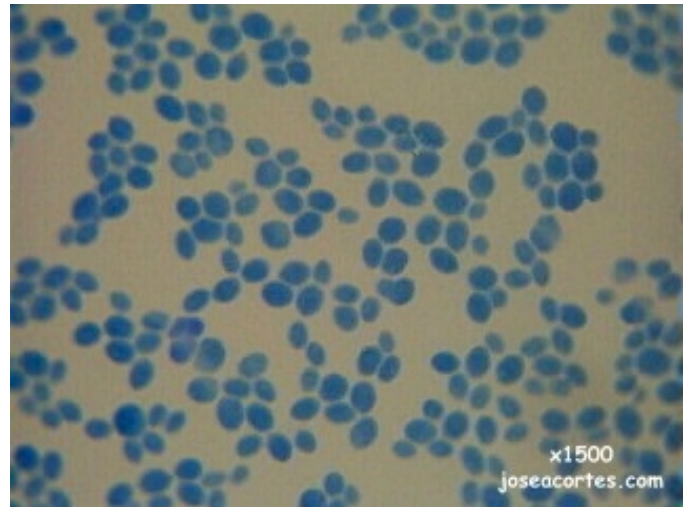
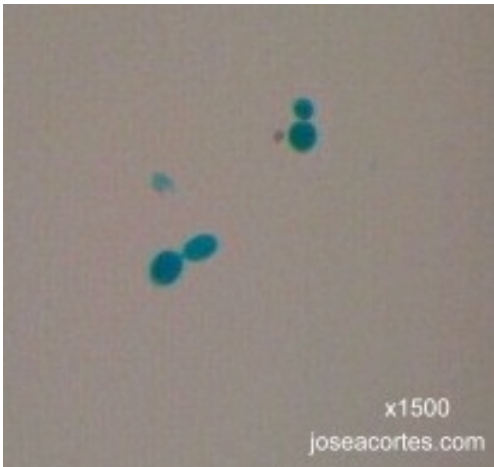


TRANSDUCCIÓN: En este caso la transferencia de ADN de una bacteria a otra, se realiza a través de un **virus bacteriófago**, que se comporta como un **vector intermediario** entre las dos bacterias.

Yemación

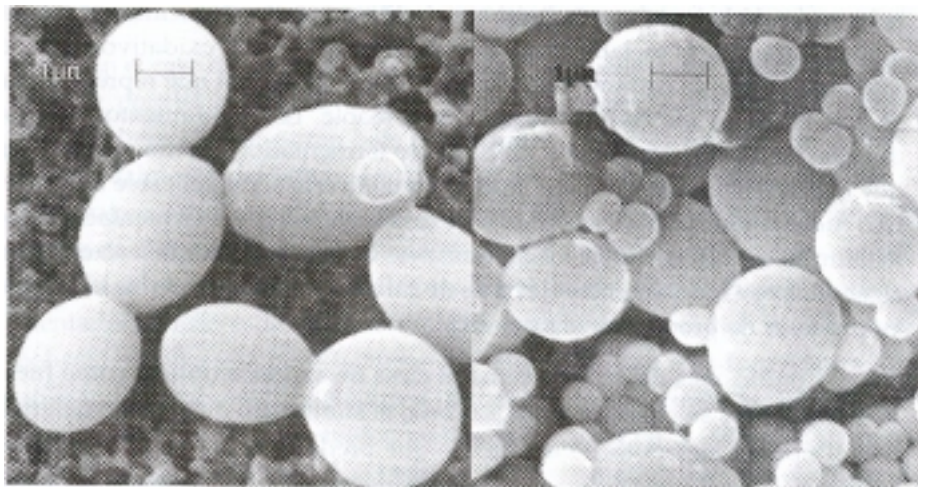


- Modalidad de reproducción asexual propia de las levaduras.
- Sobre la superficie de la levadura, comienza a formarse un **brote** o **yema**.
- El núcleo se duplica, y uno de los núcleos se introduce en el brote que está en formación.
- Después de un tiempo, la yema se separa de la célula progenitora y se independiza, constituyendo un nuevo individuo.
- También, el brote puede quedar unido a la célula madre y formar colonias.
- Se forman dos células de distinto tamaño, el citoplasma se reparte en forma desigual.
- La célula madre permanece.



Levadura X 1500

Yemación de levaduras X 1500



Cómo se cuantifica ???

NUMERO

MASA

- + celdas de recuento (método directo)
- + recuento total en placas (UFC)
- + nefelometría
- + NMP
- + métodos instrumentales
 - Contador Coulter

- + peso seco
- + turbidimetría
- + volumen compactado
- + dispersión de luz
- + estimaciones físicas (μ)
- + estimaciones químicas
 - cambios en el medio de cultivo
 - cambios en la célula
- + balances de materia

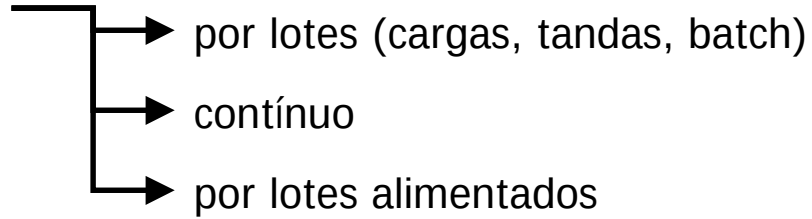


Métodos	Fundamento	Observaciones
Recuento en celda	Conteo directo del N° de células	Requiere células individuales y medio limpio
Recuento en placa	Conteo del N° de colonias	Requiere células individuales, influencia de las condiciones de incubación
Nefelometría	Dispersión de la luz	Requiere cultivo homogéneo y traslúcido
N.M.P.	Estadístico	Requiere células individuales y medio limpio
Peso seco	Medición directa	No admite sólidos en el medio. Trabajo
Turbidimetría	Transmisión de la luz	Requiere células individuales y medio limpio
Volumen empacado	Centrifugación	Poco preciso
Físicos y químicos	Variados, indirectos	Cambios en viscosidad, pH. Análisis de componentes celulares
Balances de masa	Conservación de la masa	Gran cantidad de datos analíticos

Métodos para la cuantificación del crecimiento de poblaciones microbianas

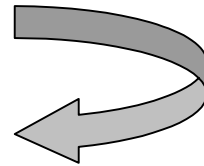
2.2.- CURVAS DE CRECIMIENTO EN CULTIVOS POR LOTES

Modalidades
de cultivo

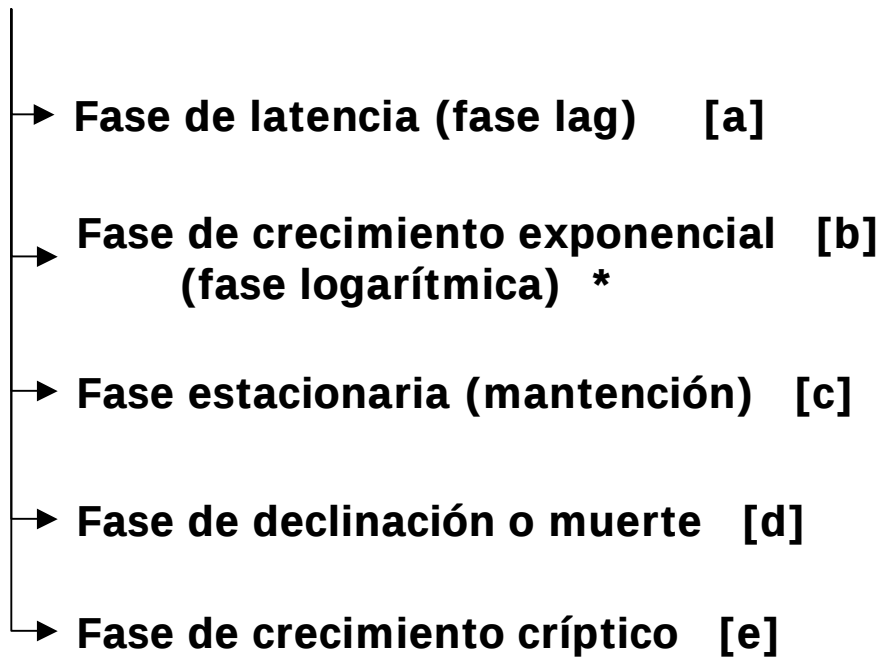


SISTEMA BATCH

ES UN SISTEMA
CERRADO



CURVA DE CRECIMIENTO



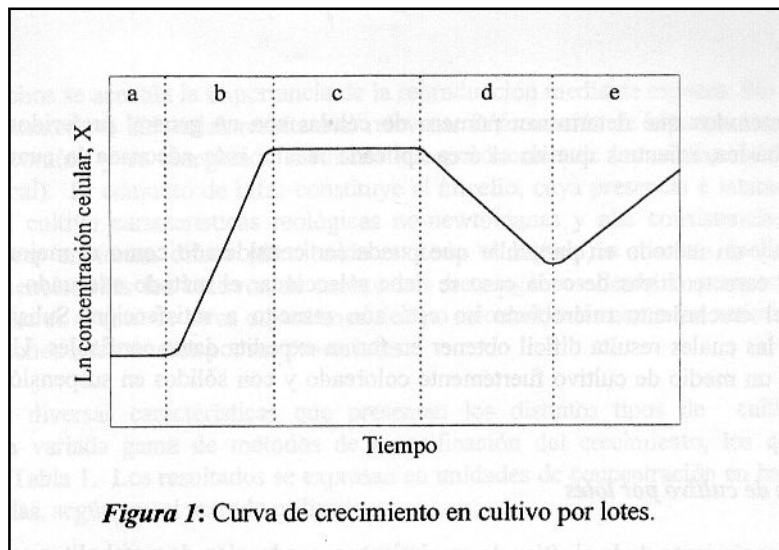
* Ecuaciones características

$$\frac{dX}{dt} = \mu X \quad \longrightarrow \quad X = X_0 \cdot e^{\mu \cdot t}$$

X: Concentración celular en masa [gr célula seca/lt]

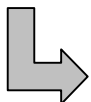
t: Tiempo [hr]

μ: Velocidad de crecimiento [hr⁻¹]



Observaciones

- ⊕ Es posible distinguir también cortas fases de aceleración y desaceleración del crecimiento
- ⊕ La fase estacionaria puede presentar una leve pendiente positiva si el nutriente limitante es, por ejemplo, la fuente de nitrógeno
- ⊕ Si se utiliza número de células en lugar de biomasa, aparecen algunas diferencias en la curva:



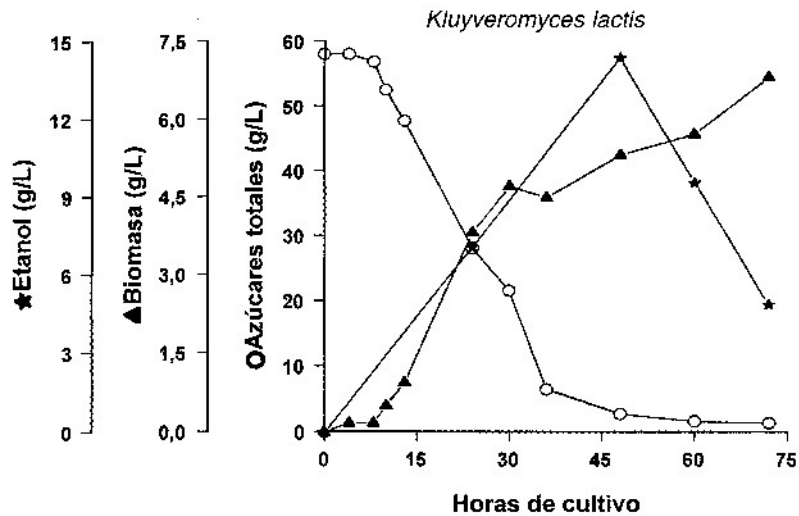
Fase de latencia: no hay aumento de células viables

Fase estacionaria: no se apreciará aumento en caso de limitación por nitrógeno

¿ A qué velocidad crece este cultivo ?

¿ Hasta cuándo crece un M.O. ?

Crecimiento diáuxico



Cultivo discontinuo aeróbico de la levadura *Kluyveromyces lactis* en lactosuero desproteinizado. Condiciones: matraces Erlenmeyer con 1/5 de su volumen de medio de cultivo bajo agitación orbital a 150 rpm y a 30 °C.

En la situación representada en el gráfico, en primer lugar la levadura metaboliza la lactosa, fermentando una parte de ella hasta etanol. Este alcohol es consumido oxidativamente en una segunda etapa.

Se produce cuando el microorganismo dispone de dos fuentes de carbono en el medio y no comienza a consumir la segunda hasta que no ha agotado la primera.



SE OBSERVAN DOS FASES DE CRECIMIENTO BIEN DIFERENCIADAS

Otro ejemplo comunmente citado es el crecimiento de microorganismos en un medio conteniendo glucosa y lactosa. La glucosa es rápidamente metabolizada, mientras la utilización de lactosa queda paralizada por represión catabólica.

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

pendiente de la recta



$$\mu = \frac{1}{X} \cdot \frac{dX}{dt} = \frac{d \ln X}{dt}$$

Integrando en fase exponencial



$$\ln \frac{X}{X_0} = \mu \cdot t$$

$$X = X_0 \cdot e^{\mu \cdot t}$$

Tiempo de duplicación



Lapso entre dos duplicaciones sucesivas

$$t_d = \frac{\ln 2}{\mu}$$

Tipo de célula	t_d (h)
Bacterias	0.3 – 2.0
Levaduras	1.0 – 4.0
Hongos filamentosos	2.0 – 7.0
Microalgas	18 – 35
Células animales in vitro	20 – 40

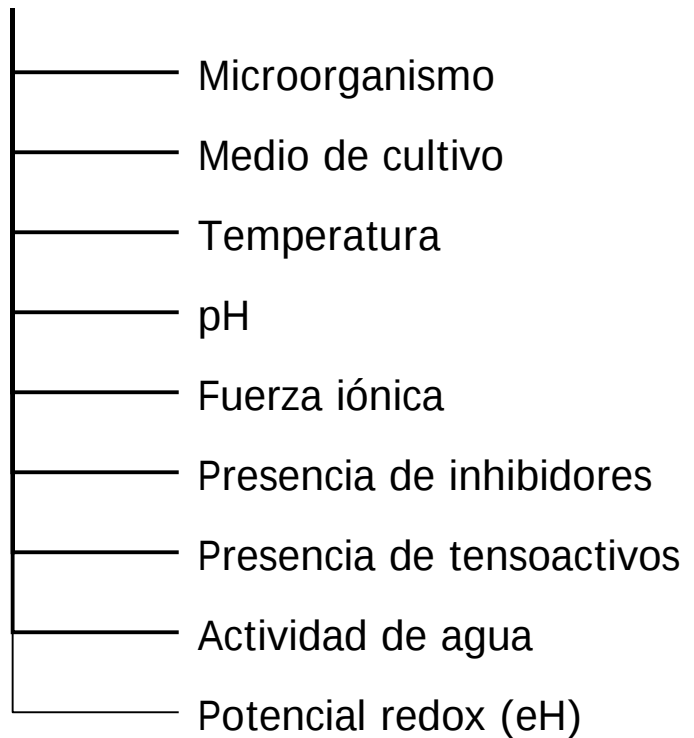
Tiempos de duplicación característicos

iii ECUACIONES VÁLIDAS PARA LA FISIÓN BINARIA !!!

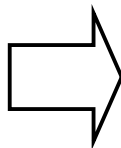
- Bacterias
- Levaduras
- Organismos filamentosos

2.3.- INFLUENCIA DE LOS FACTORES AMBIENTALES

$$\mu = f (MO, \text{factores ambientales})$$



Composición del
Medio de cultivo



Efecto cualitativo

Efecto cuantitativo

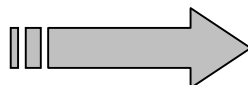


$$\mu = \mu_M \cdot \frac{S}{K_S + S}$$

MONOD, 1949

iii CASO SIN INHIBICION !!!

Si **S** >>> **K_S**



$$\mu = \mu_M$$

Sustrato	Organismo	K _s (mg/lit)
Glucosa	<i>Escherichia</i>	0.07 – 2.0
Glucosa	<i>Aspergillus</i>	5.0
Glucosa	<i>Saccharomyces</i>	25.0
Glucosa	<i>Candida</i>	4.5
Lactosa	<i>Escherichia</i>	20.0
Metanol	<i>Pseudomonas</i>	0.7
Fosfato	<i>Escherichia</i>	1.6
Magnesio	<i>Klebsiella</i>	0.56
Arginina	<i>Aspergillus</i>	0.50
Triptófano	<i>Escherichia</i>	5.0x10 ⁻⁴ – 1.0x10 ⁻³

Valores de Constante de Saturación

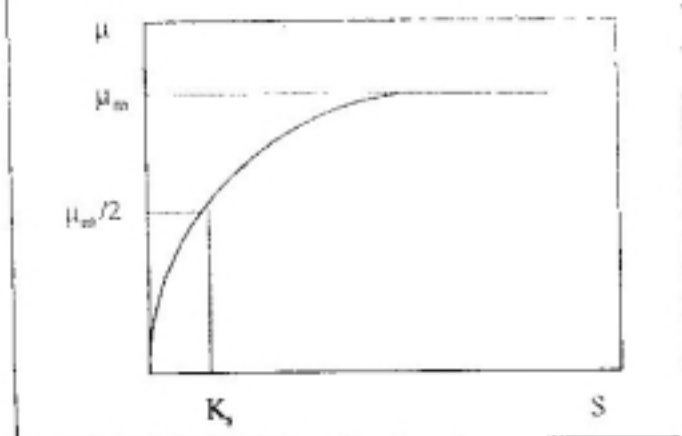
$$\mu = \mu_M \cdot \frac{S}{(K_S + S) \left(1 + \frac{S}{K_I} \right)}$$

Concentraciones altas de sustrato

↑ CRECIMIENTO INHIBIDO ↓

Concentraciones altas de productos

$$\mu = \mu_M \cdot \frac{S}{(K_S + S) \left(1 + \frac{P}{K_P} \right)}$$



Dependencia de la velocidad específica de crecimiento respecto a la concentración de sustrato limitante, según la ecuación de Monod.

La ecuación de Monod es muy simple y no siempre permite obtener una buena representación de los datos de crecimiento de un microorganismo. Por ello se han desarrollado otros modelos. A modo de ejemplo se dan las siguientes ecuaciones:

Tessier

$$\mu = \mu_m (1 - e^{-S/K_s})$$

Moser

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

Contois

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

Además debe tenerse en cuenta que en muchos casos el crecimiento celular también viene afectado por *inhibición por el sustrato* o *inhibición por el producto*. También, a modo ilustrativo se recogen algunas de las principales ecuaciones utilizadas en estos casos.

Inhibición por el sustrato:

Andrews y Noack

$$\mu = \mu_m \frac{1}{K_s + S + \frac{S^2}{K_{is}}}$$

Webb

$$\mu = \mu_m \frac{S(1 + \frac{\beta \cdot S}{K_{is}})}{K_s + S + \frac{S^2}{K_{is}}}$$

Aiba y col.

$$\mu = \mu_m \frac{S}{K_s + S} \exp\left(-\frac{S}{K_{si}}\right)$$

tipo Teissier

$$\mu = \mu_m \left[\exp\left(\frac{-S}{K_{is}}\right) - \exp\left(\frac{-S}{K_s}\right) \right]$$

Tseng y Wymann

$$\mu = \mu_m \frac{S}{K_s + S} - K_{is}(S - S_c)$$

Inhibición por el producto:

Dagley y Hinshelwood

$$\mu = \mu_m \frac{S}{K_s + S} (1 - k \cdot P)$$

Holzber y col.

$$\mu = \mu_m - k_1(P - k_2)$$

Ghose y Tyagi

$$\mu = \mu_m \left[1 - \frac{P}{P_{\max}} \right]$$

Aiba y Shoda

$$\mu = \mu_m \frac{S}{K_s + S} \cdot e^{-k \cdot P}$$

Jerusalimsky y Neronova

$$\mu = \mu_m \frac{S}{K_s + S} \cdot \frac{K_{ip}}{K_{ip} + P}$$

Levenspiel

$$\mu = \mu_m \left(1 - \frac{P}{P^*} \right)^n \frac{S}{K_s + S}$$

La ecuación de Monod generalizada, propuesta por Han y Levenspiel intenta cubrir la mayor parte de las situaciones mencionadas, en particular la inhibición por el sustrato, producto o las mismas células. Su forma es:

$$\mu = \mu_m \left(1 - \frac{C_i}{C_i^*} \right)^n \frac{S}{S + K_s \cdot \left(1 - \frac{C_i}{C_i^*} \right)^m}$$

o

$$\mu = k_{obs} \frac{S}{S + K_{sobs}}$$

con

$$k_{obs} = \mu_m \left(1 - \frac{C_i}{C_i^*} \right)^n \quad K_{sobs} = K_s \left(1 - \frac{C_i}{C_i^*} \right)^m$$

Para el caso de la inhibición por el producto ($C_i = P$) o por las propias células ($C_i = X$), las constantes de la ecuación se pueden evaluar a partir de una linealización mediante una representación del tipo Lineweaver-Burk, de $1/\mu$ frente a $1/S$:

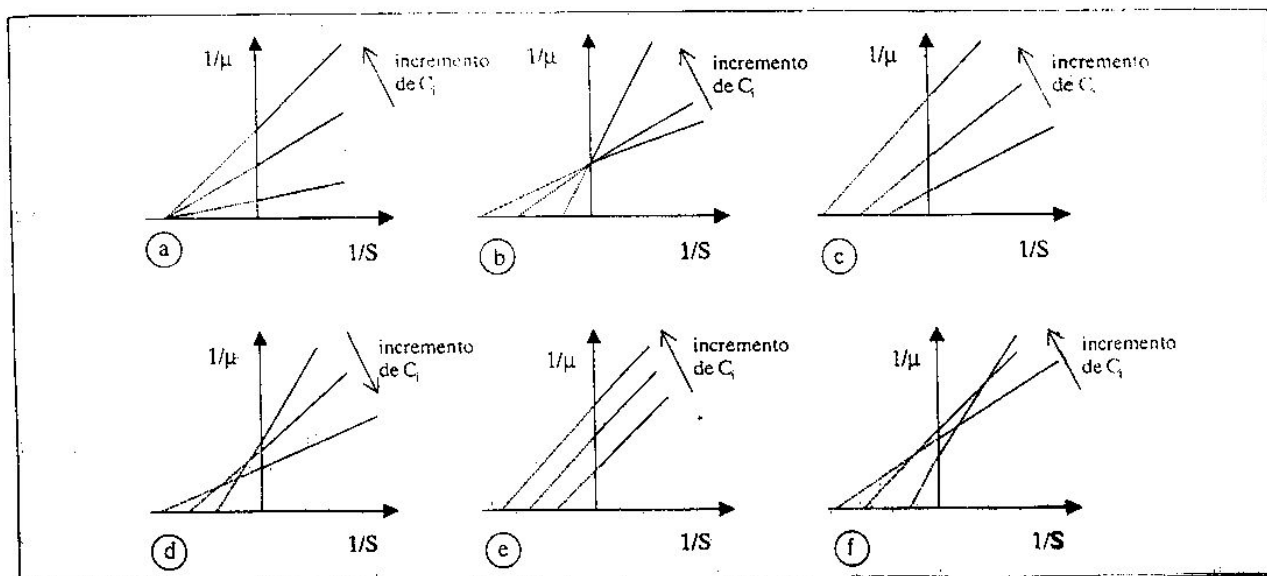
$$\frac{1}{\mu} = \frac{K_s \left(1 - \frac{C_i}{C_i^*}\right)^m}{\mu_m \left(1 - \frac{C_i}{C_i^*}\right)^n} \frac{1}{S} + \frac{1}{\mu_m \left(1 - \frac{C_i}{C_i^*}\right)^n} \quad (4.34)$$

o

$$\frac{1}{\mu} = \frac{K_{sobs}}{k_{obs}} \frac{1}{S} + \frac{1}{k_{obs}} \quad (4.35)$$

En la figura 4.5 se recoge la forma que toma dicha linealización para las seis formas más comunes de inhibición, es decir:

- Inhibición no competitiva, con $n > 0$ y $m = 0$.
- Inhibición competitiva, con $n = 0$ y $m < 0$.
- Inhibición generalizada (anticompetitiva), con $n > m > 0$.
- Inhibición generalizada (anticompetitiva), con $m > n > 0$.
- Inhibición anticompetitiva, con $n = m > 0$.
- Caso general, con $n > 0$ y $m < 0$.



Representaciones de Lineweaver-Burk para distintas formas de inhibición por el producto, de acuerdo con el modelo de Han y Levenspiel.

Ejemplo 4.2. Se plantea la modelización de los datos cinéticos de un estudio efectuado por Bazua y Wilke en un RCTA sobre la fermentación alcohólica, que es un caso bien conocido de inhibición por el producto. Los datos experimentales obtenidos en distintos estados estacionarios se recogen en el cuadro 4.4.

Se plantea la utilización de la ecuación generalizada de Han y Levenspiel, ya descrita y se requiere comprobar su validez y calcular el valor de los parámetros cinéticos correspondientes. Al realizarse una representación de Lineweaver-Burk ($1/\mu$ respecto a $1/S$) de estos datos, para cada uno de los valores promedio de la concentración de etanol recogidos en la tabla, se obtiene la Figura 4.6, donde se puede observar que la inhibición es de tipo no-competitivo. Los valores de k_{obs} y K_{Sobs} obtenidos se recogen en el cuadro 4.5.

Como puede observarse, la variación del valor de K_{Sobs} es muy pequeña y por tanto se puede tomar el mismo valor promedio. Así, de acuerdo con esta situación de inhibición no competitiva por el producto, la ecuación ahora será:

$$\mu = \mu_m \left(1 - \frac{P}{P^*} \right)^n \frac{S}{S + K_s}$$

CUADRO 4.5

Valores de las constantes k_{obs} y K_{Sobs} [según las ecuaciones 4.31 y 4.33] obtenidos a partir de las linealizaciones de la figura 4.6

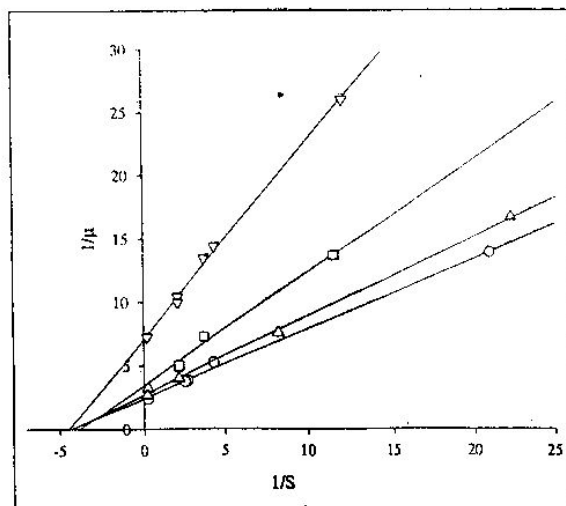
P_{media} (g/l)	k_{obs} (h ⁻¹)	K_{Sobs} (g/l)
4,37	0,415	0,230
29,19	0,368	0,230
61,29	0,289	0,259
81,30	0,141	0,223

CUADRO 4.4

Datos experimentales tratados en el ejemplo 4.2, correspondientes a distintos estados estacionarios de un RCTA. Estudio de la fermentación alcohólica por *Saccharomyces cerevisiae*

μ (h ⁻¹)	S (g/l)	P (g/l)
13,88	20,88	
5,21	4,30	
3,79	2,67	4,37
3,70	2,50	
2,38	0,22	
16,67	22,20	
7,58	8,20	
3,97	2,10	29,19
3,21	0,20	
2,66	0,15	
13,66	11,49	
7,25	3,70	
4,96	2,13	61,29
3,88	—	
26,04	12,05	
14,37	4,35	
13,44	3,70	
10,42	2,08	81,3
9,92	2,08	
7,25	0,17	

Datos publicados por C. D. Bazua y C. R. Wilke, *Biotechnol. Bioeng. Symp.*, 7, 105 (1977).



• FIGURA 4.6. Representación tipo Lineweaver-Burk de los datos experimentales de Bazua y Wilke, recogidos en el cuadro 4.4, para cada uno de los distintos valores de P_{media} (g/l): 4.37 (○), 29.19 (Δ), 61.29 (□) y 81.3 (▽).

De la información obtenida en la gráfica de la figura 4.6 también se puede calcular el valor de la constante $K_s = 0,22$ g/l. Para determinar el resto de las constantes se tiene en cuenta la forma de la expresión de k_{obs} :

$$k_{obs} = \mu_m \left(1 - \frac{P}{P^*} \right)^n$$

tomando logaritmos se tiene:

$$\log k_{obs} = \log \mu_m + n \log \left[1 - \frac{P}{P^*} \right]$$

si se conoce P^* , como en muchos casos suele ocurrir, la representación de $\log k_{obs}$ respecto a $\log (1 - P/P^*)$ debería ajustarse a una recta, de la que se obtendrían los valores de n y μ_m . Si P^* no es conocido, como en este ejemplo, se puede resolver de forma gráfica mediante iteración, probando distintos valores de P^* hasta que se obtiene una representación de los datos que se ajusta a una línea recta, como se ilustra en la Figura 4.7. Los resultados obtenidos mediante este procedimiento son $P^* = 87,5$ g/l, $n = 0,41$ y $\mu_m = 0,42$ h⁻¹.

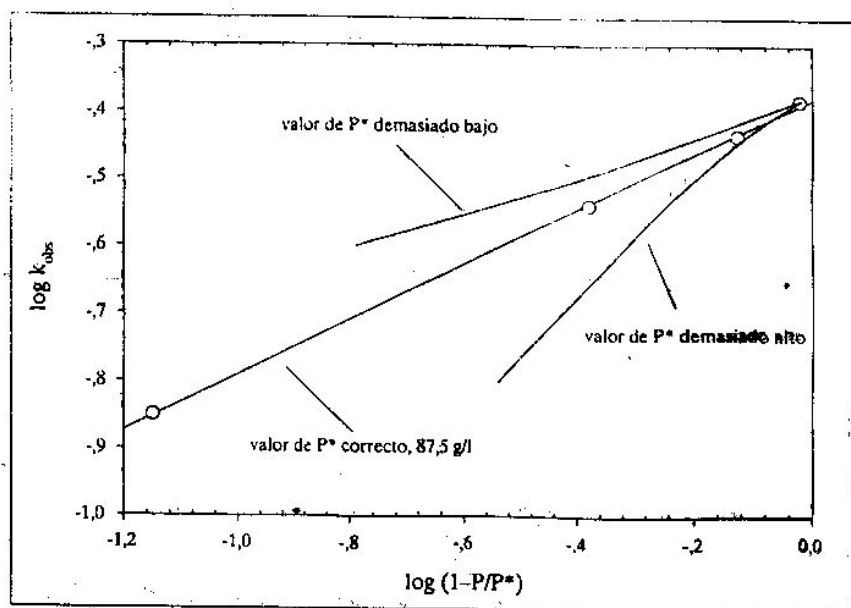


FIGURA 4.7. Determinación gráfica de P^* y n a partir de los datos del cuadro 4.5 y la metodología propuesta en el ejemplo 4.2.

Temperatura de cultivo

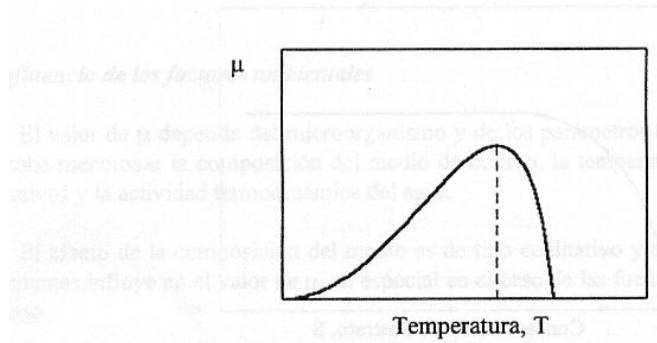


Figura 3: Influencia de la temperatura en la velocidad específica de crecimiento.

Cada rama de la curva puede ser modelada por una ecuación del **tipo Arrhenius**

$$\mu = A \cdot e^{-\frac{E_a}{R \cdot T}}$$

E_a [8 – 26 kcal/mol]

- MO psicrófilos (0-15 °C)
- MO mesófilos (20-40 °C)
- MO termófilos (45 °C y superiores)

pH — Existe valor óptimo

- { Bacterias (6 – 7.5)
- { Levaduras (3.5 – 5.5)
- { Mohos (3 – 7)

— Curva variada →

No se ha formulado un modelo matemático simple y general para representarla

Potencial redox — Su valor determina la posibilidad de ocurrencia de reacciones de oxidación de sustrato

— Valor relevante para organismos quimioautótrofos

Actividad de Agua →

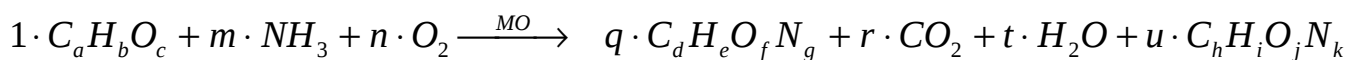
Los MO requieren un nivel mínimo de a_w para posibilitar su desarrollo

$$a_w > 0.85$$

2.3.- DISEÑO DE MEDIOS DE CULTIVO

OBJETIVO

Desarrollo de una fermentación con mínimo costo por unidad de producto

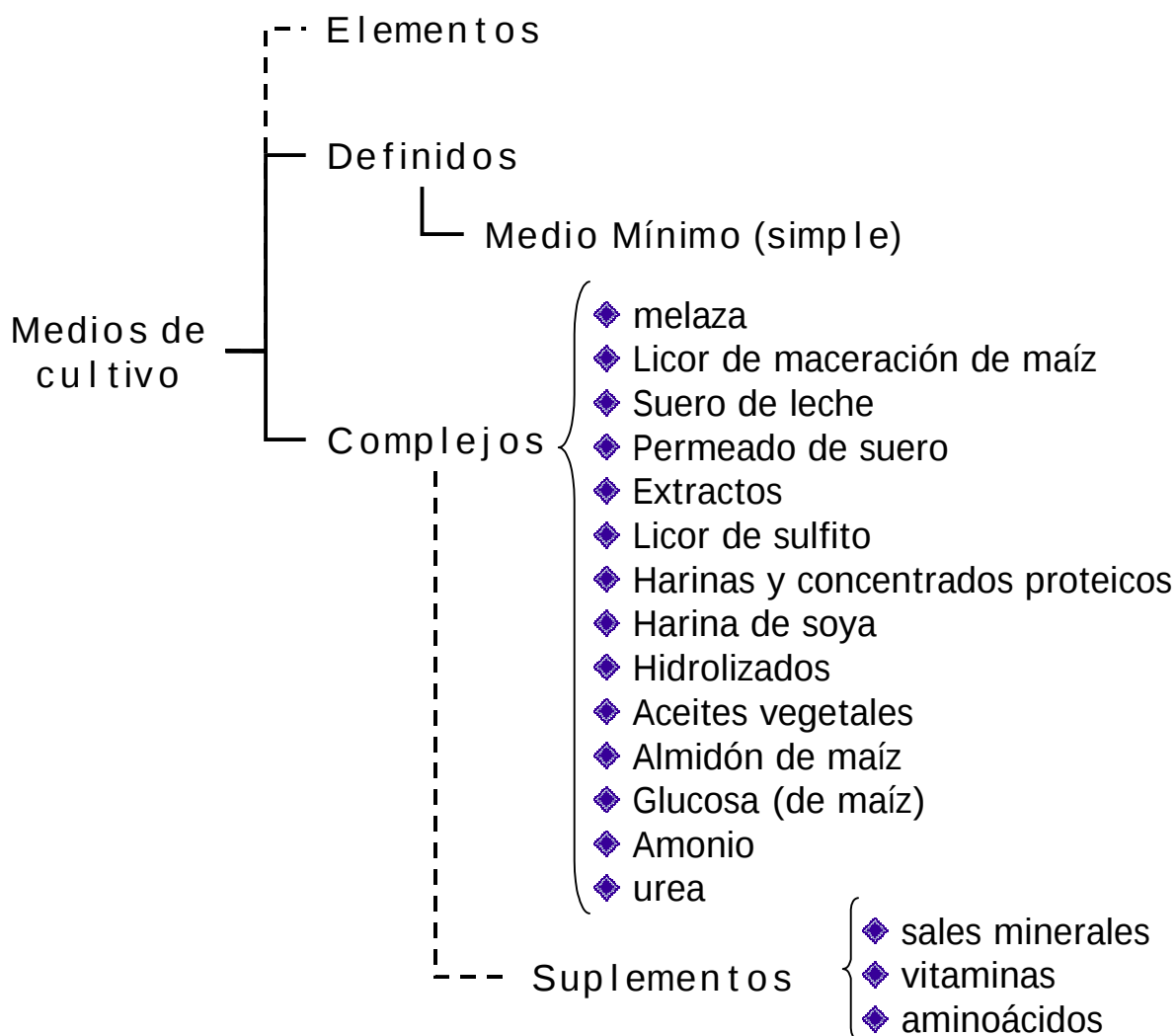
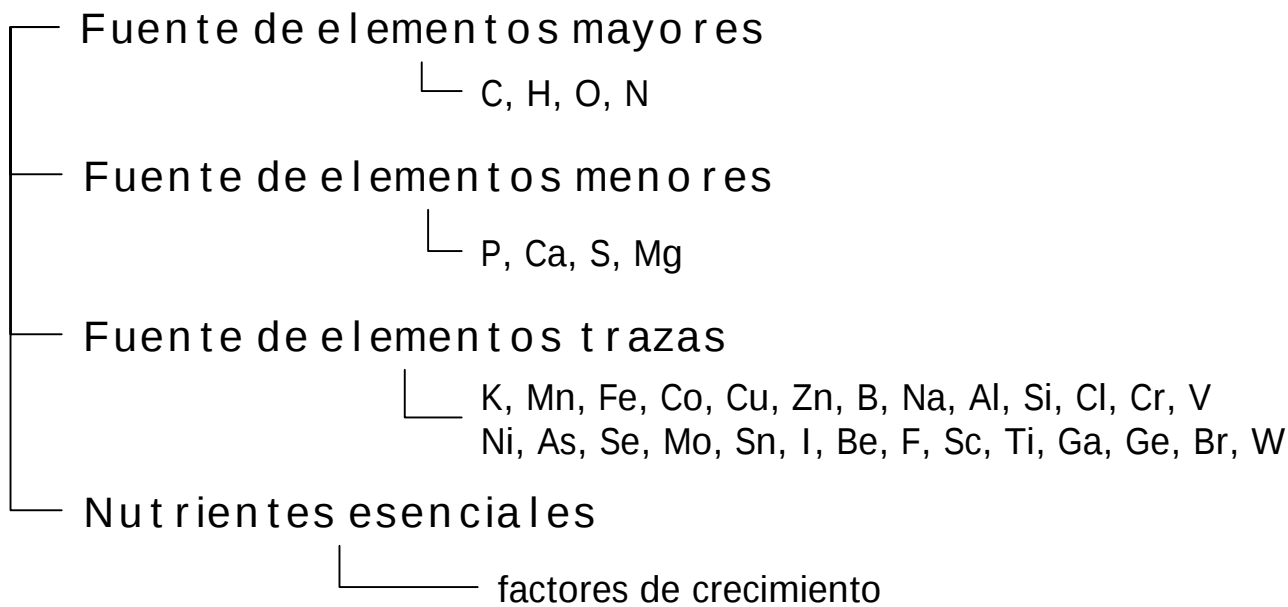


% en peso, base seca

Elemento	bacterias	levaduras	mohos
Carbono	46 – 52	46 – 52	45 - 55
Hidrógeno	8 – 12	8 – 12	8 – 12
Oxígeno	18 – 24	18 – 24	18 – 24
Nitrógeno	10 – 14	5 – 9	3 – 7
Magnesio	0.1 – 0.5	0.1 – 0.5	0.1 – 0.3
Fósforo	2.0 – 3.0	0.8 – 0.25	0.4 – 4.5
Azufre	0.1 – 1.0	0.01 – 0.25	0.1 – 0.5
Calcio	0.01 – 1.0	0.1 – 0.3	0.1 – 1.4
Potasio	1.0 – 4.5	1.0 – 4.0	0.2 – 2.5
Hierro	0.02 – 0.2	0.01 – 0.5	0.1 – 0.2
Otros	<0.01	<0.01	<0.01

Compuesto			
Proteínas	50 – 60	35 - 45	25 – 40
Carbohidratos	6 – 15	30 – 45	40 – 55
Lípidos	5 – 10	5 – 10	5 – 10
Ac. Nucleicos	15 – 25	5 – 15	2 – 10
Cenizas	4 - 10	4 - 10	4 - 10

Composición química de células microbianas



Formulación de Medios de Cultivo

Conocer composición del MO



REQUERIMIENTOS

Definir las fuentes de nutrientes a utilizar

C $C_6H_{12}O_6$

P K_2HPO_4

Mg $MgCl_2$, $MgSO_4$

N NH_4Cl , $(NH_4)_2SO_4$

S $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, K_2SO_4 , $FeSO_4 \cdot 7H_2O$,
 $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, Na_2SO_4

K KCl

Estimar las cantidades necesarias de cada fuente

$y_{x/s}$

Glucosa 0.45 – 0.50

$(NH_4)_2SO_4$ 2.0 – 3.0

KH_2PO_4 10 – 15

$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 20 - 25

Cuántas células vamos a hacer

Cuánto sustrato vamos a agregar



RENDIMIENTO

¿Cómo estimarlo?

$$y_{x/s} = \frac{\Delta X}{-\Delta S}$$

Experimentalmente

Estimación teórica

$$y_{x/s} = \frac{\% \text{ del elemento en Fuente}}{\% \text{ del elemento en Célula}} \times f$$

$\neq$ Carbono $f = 1$

$=$ Carbono

Aerobio $f = 0.6$

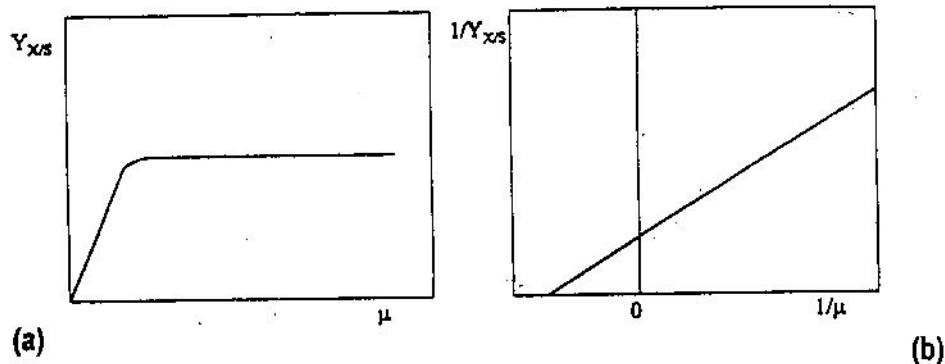
Anaerobio $f = 0.1$

Determinar el nutriente limitante

Determinar la incorporación de
otros nutrientes y trazas

Cálculo de tampones

$[KH_2PO_4 + Na_2HPO_4] \sim 10 \text{ g/lit}$



Relación de $Y_{x/s}$ con μ para la fuente de carbono y energía

(a) Relación hiperbólica entre ambos

(b) Linealización a partir de ecuación de inversos

Estimaciones:

A partir de un balance de los contenidos de un elemento en la célula y en el respectivo nutriente:

$$Y_{x/s} = \frac{\% \text{ elemento en nutriente}}{\% \text{ elemento en biomasa}}$$

SUPONE TODO NUTRIENTE A CRECIMIENTO

Para la fuente de carbono y energía



$\sim Y_{x/s}^0$



METABOLISMO AEROBIO $\rightarrow f = 0.6$

$$Y_{x/s} = \frac{\% \text{ elemento en nutriente}}{\% \text{ elemento en biomasa}} \times f$$

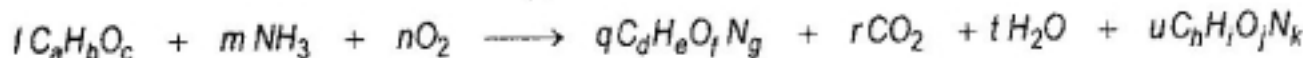


NO TODO EL CARBONO
METABOLIZADO APARECE EN
BIOMASA

METABOLISMO ANAEROBIO $\rightarrow f = 0.1$

Rendimiento de un nutriente en células

Reacción simbólica



FORMULACION DE
MEIOS DE CULTIVO

ESTUDIO CUANTITATIVO
DE FERMENTACIONES

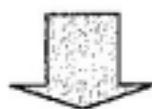
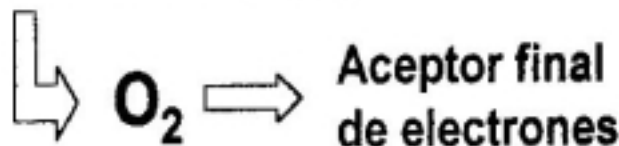

$$Y_{x/s} = \frac{\Delta X}{-\Delta S} = \frac{\text{masa celular producida}}{\text{nutriente consumido}}$$

A través de este parámetro se puede relacionar las velocidades de variación de biomasa y de consumo de sustrato

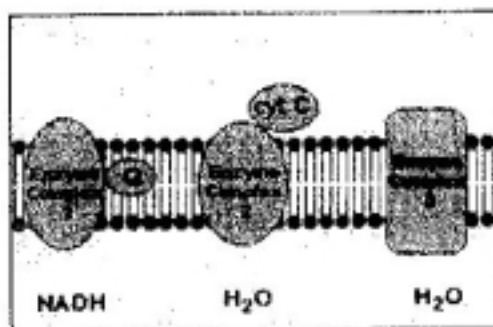
$$\frac{dX}{dt} = -Y_{x/s} \frac{dS}{dt}$$

$$-\frac{dS}{dt} = \frac{\mu X}{Y_{x/s}}$$

METABOLISMO AEROBIO



$$Y_{O_2} = Y_{x/O_2} = \frac{\text{incremento en masa celular}}{\text{consumo de oxígeno}}$$



Otras estimaciones de $Y_{x/s}$ para fuente de carbono

- Electrones disponibles
- Reductancia

Nutriente	$Y_{x/s}$ (g/g)			
	(1)	(2)	(3)	(4)
Glucosa	0.45	0.48	0.42	0.44
Fructosa	0.42	0.48	0.42	0.44
Glicerol	0.45	0.47	0.48	0.43
Metanol	0.40	0.45	0.59	0.41
Maltosa	0.46	0.51	0.44	0.46
Acetato	0.32	0.48	0.42	0.44

(a) Acevedo (1987)

(1) Datos experimentales, (2) Calculados de ec.(19), (3) Calculados en base a electrones disponibles, (4) Calculados en base a 1.1 g de biomasa por gramo de carbono en el nutriente.

RENDIMIENTO DE OXIGENO EN CELULAS (Y_{O_2})

En base a un balance de C, H, O y N en la ecuación:



suponiendo que no hay formación de producto extracelular



ECUACION DE MATELES
(1971)

$$\frac{1}{Y_{O_2}} = \frac{32a + 8b + 16c}{Y_{x/s} \cdot M_s} + 0.01 \cdot f' - 0.0267 \cdot d' + 0.017414 \cdot g' - 0.08 \cdot e'$$

El rendimiento de la fuente de carbono y energía depende de la velocidad específica de crecimiento

¿ Cómo hallar esta relación ?



BALANCE DE MASA A FTE DE CARBONO

TOTAL

$$\Delta S_T = \Delta S_c + \Delta S_m + \Delta S_p$$

CRECIMIENTO MANTENCIÓN DE VIABILIDAD CELULAR PRODUCCIÓN DE METABOLITOS EXTRACELULARES

$$\left(\frac{dS}{dt} \right)_T = \left(\frac{dS}{dt} \right)_c + \left(\frac{dS}{dt} \right)_m + \left(\frac{dS}{dt} \right)_p$$

$$\frac{\mu X}{Y_{x/s}} = \frac{\mu X}{Y^0_{x/s}} + m X + \frac{1}{Y^0_{p/s}} \frac{dP}{dt}$$



Si no existe producción de metabolito extracelular y reemplazando cada término en función de parámetros de cultivo...

$$\frac{\mu X}{Y_{x/s}} = \frac{\mu X}{Y^0_{x/s}} + m X$$

COEFICIENTE DE MANTENCIÓN

Valores referenciales de coeficientes de mantención

Organismo	m (g fuente energía / g célula h)
<i>Lactobacillus casei</i>	0.135
<i>Aerobacter cloacae</i>	0.094
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0.036
<i>Penicillium chrysogenum</i>	0.022
<i>Candida utilis</i>	0.170
<i>Azobacter vinelandii</i>	0.15
<i>Klebsiella aerogenes</i>	0.04

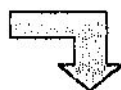
$$\frac{1}{Y_{x/s}} = \frac{1}{Y^0_{x/s}} + m \frac{1}{\mu}$$

RENDIMIENTO TOTAL
RENDIMIENTO GLOBAL
RENDIMIENTO

RENDIMIENTO TEORICO
RENDIMIENTO MÁXIMO

CINÉTICA DE FORMACIÓN DE PRODUCTOS

Rendimiento de sustrato en producto



$$Y_{p/s} = \frac{\Delta P}{-\Delta S_T} = \frac{\text{producto formado}}{\text{nutriente total consumido}}$$
 EXPERIMENTALMENTE

$$Y_{p/s}^0 = \frac{\Delta P}{-\Delta S_p} = \frac{\text{producto formado}}{\text{fte de C y E consumida para producto}}$$
 ANALITICAMENTE

$$\frac{1}{Y_{x/s}} = \frac{1}{Y_{x/s}^0} + \left(m + \frac{q_p}{Y_{p/s}^0} \right) \cdot \frac{1}{\mu}$$

$$Y_{p/s}^*$$
 ESTEQUIOMETRÍA DE REACCIÓN $S \rightarrow P$

Estimaciones de rendimientos teóricos de metabolitos (a).

Sustrato	Producto	Y_{ps} (g/g)
glucosa	etanol	0.51
sacarosa	etanol	0.54
glucosa	lisina	0.57 - 0.69
acetato	lisina	0.44 - 0.60
glucosa	GMP	1.15
glucosa	XMP	1.16
glucosa	IMP	1.11
glucosa	penicilina	0.66 - 1.10
glucosa	ác. Cítrico	1.07
glucosa	estreptomycinina	0.70 - 0.75
glucosa	fenilalanina	0.51

(a) Datos de Acevedo (1987) y Conejeros y col. (1992)

Determinación de fracciones de sustrato destinadas a:

- Crecimiento
- Mantención
- Producto

Destino del sustrato en la producción de penicilina y ácido inosínico (a).

Producto	% utilizado en		
	crecimiento	mantención	producto
Penicilina (1)	28	61	11
Penicilina (2)	25	57	16
IMP (3)	16	66	18
IMP (4)	74	9	17
IMP (5)	26	61	13

(a) Datos de Cooney y Acevedo (1977) y Muzzio y Acevedo (1985)

(1) y (2) cálculos realizados con diferentes suposiciones sobre ruta biosintética, (3) a (5) datos de distintas cepas y diferentes estrategias de cultivo.

PRODUCTIVIDADES

$$\text{Productividad volumetrica} = \frac{\text{masa obtenida}}{\text{tiempo} \times \text{volumen}}$$

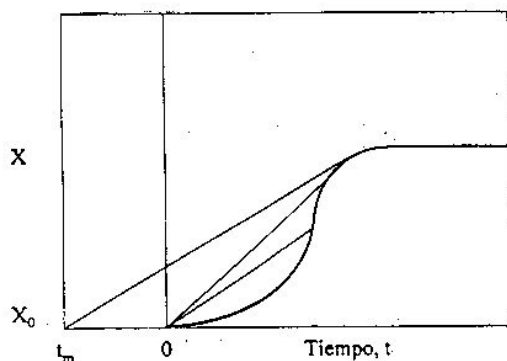
$$Q_x = \frac{dX}{dt};$$

$$Q_p = \frac{dP}{dt}$$

$$Q_x = \frac{\Delta X}{\Delta t};$$

$$Q_p = \frac{\Delta P}{\Delta t}$$

$$Q_x = \frac{X}{t} = \frac{X - X_0}{t_m + t_l + \frac{1}{\mu} \cdot \frac{X}{X_0}}$$

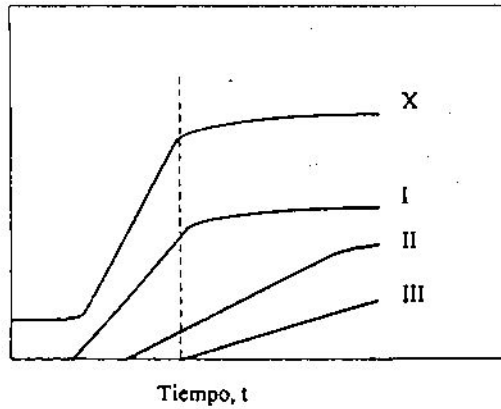


Productividad volumétrica de biomasa o producto.

$$q_p = \frac{\text{masa de producto}}{\text{tiempo} \times \text{masa de células}}$$

$$q_p = \frac{1}{X} \cdot \frac{dP}{dt}$$

CLASIFICACIÓN CINÉTICA DE LAS FERMENTACIONES



Clasificación de Gaden de la producción de metabolitos en cultivo por lotes.

MODELOS PARA PRODUCCIÓN DE METABOLITOS

- ESTRUCTURADOS
- NO ESTRUCTURADOS

Luedeking y Piret (1959)



$$\frac{dP}{dt} = \alpha \frac{dX}{dt} + \beta X$$

$$q_p = \frac{1}{X} \cdot \frac{dP}{dt} = \alpha \mu + \beta$$

