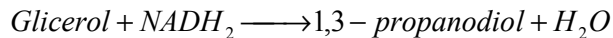
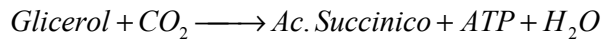
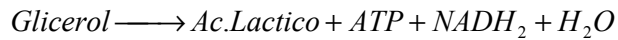


GUIA DE ESTUDIOS. ENERGETICA DEL CRECIMIENTO II

- 1 Se realiza un cultivo continuo en anaerobiosis de una *K. pneumoniae* utilizando glicerol como fuente de carbono y energía, NH_3 como fuente de N, sales y vitaminas. En estas condiciones de cultivo, el microorganismo obtiene la energía a partir de las siguientes reacciones:



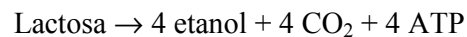
por lo que, además de biomasa, se obtienen en el efluente del reactor, los productos de las tres reacciones.

Datos del cultivo (todos en estado estacionario): $X = 5,0 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$, $[\text{Lac}] = 0,35 \text{ moles} \cdot \text{l}^{-1}$, $[\text{Succ}] = 0,15 \text{ moles} \cdot \text{l}^{-1}$, $D = 0,1 \text{ h}^{-1}$, $S \approx 0$.

a- Calcular el valor de $Y_{X/\text{ATP}}$ (en $\text{g X} / \text{mol ATP}$)

b- Que función cumple la tercera reacción. Calcular la concentración de 1,3-propanodiol en estado estacionario.

2. Una mutante respiratoria de *Kluyveromyces fragilis* se hace crecer en cultivo continuo alimentándolo con un medio conteniendo Lactosa, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, sales y vitaminas; $\text{pH} = 4,70$. Estos mutantes han perdido la capacidad de utilizar O_2 como aceptor final de electrones, y la energía la obtienen de la reacción:



Las condiciones de cultivo fueron:

$$\begin{array}{ll} D = 0,050 \text{ h}^{-1} & \text{Sustrato limitante} = \text{Lactosa} \\ \text{Aireación} = 0,5 \text{ VVM (25 }^\circ\text{C, 1 atm)} & \text{Temperatura} = 30 \text{ }^\circ\text{C} \end{array}$$

En estado estacionario se obtuvieron los siguientes resultados:

$$x = 7,30 \text{ g/l} \quad r_{\text{lactosa}} = 0,114 \text{ c.mol} / \text{l.h}$$

Composición de los gases de salida	% $\text{CO}_2 = 2,619$	% $\text{O}_2 = 20,45$
Composición de los gases de entrada	% $\text{CO}_2 \approx 0$	% $\text{O}_2 = 21,0$

- a) ¿Se trata realmente de una mutante respiratoria?
b) Se dispone de un método para determinar etanol hasta una concentración de $1,0 \text{ g/l}$. ¿Qué dilución habrá que hacerle a la muestra para que entre en el rango de medida?
c) ¿Es posible en este caso calcular el $Y_{X/\text{ATP}}$? En caso afirmativo, ¿qué valor arroja?

- 3.- Se realiza un cultivo continuo utilizando una cepa salvaje de *K. fragilis*. El reactor se alimenta con un medio conteniendo Lactosa, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, sales y vitaminas. El pH se controla a 4,7.

Las condiciones de cultivo fueron:

$$D = 0,050 \text{ h}^{-1}$$

$$\text{Aireación} = 0,5 \text{ V.V.M. (25 }^\circ\text{C, 1 atm)}$$

Sustrato limitante = Lactosa

Temperatura: 30 °C

En estado estacionario se obtuvieron los siguientes resultados:

$$x = 15,6 \text{ g/l}$$

$$r_{\text{lactosa}} = 1,75 \text{ g / l.h}$$

Composición de los gases de entrada % CO₂ = 0 % O₂ = 21,0

Composición de los gases de salida % CO₂ = 2,2 % O₂ = 18,74

- a) Teniendo en cuenta que el valor de $Y_{X/ATP}$ determinado para una mutante respiratoria de esta misma cepa fue de 11,1 g/mol, y que este microorganismo obtiene 4 mol ATP por cada mol de Lactosa a nivel de la glucólisis, calcule la relación (P/O)
- b) ¿Qué ocurrirá con el rendimiento celular si en el medio de cultivo se reemplaza la lactosa por su equivalente en c-moles de Acetato? (asumir la misma relación P/O).

4.- *Geotrichum klebahnii* es un hongo levaduriforme que, cuando crece limitado en O₂ produce etanol como único producto carbonado (aparte de la biomasa).

Se realiza un cultivo de *G. klebahnii* de tal forma que el mismo crece en forma irrestricta hasta las 6 horas de cultivo, momento en el que el crecimiento se hace limitado en O₂. El medio de cultivo contiene glucosa, urea y sales. La composición de *G. klebahnii* es CH_{1.83}O_{0.56}N_{0.17}, el mismo utiliza glicólisis y produce un GTP por cada acetil-coA que ingresa al ciclo de Krebs.

$$\sigma = 1.09. \quad m_s = 0.03 \text{ g /g h}$$

- a) ¿Cuáles son los componentes que deben ser considerados para explicar el crecimiento en estas condiciones?
- a) Plantee el sistema de ecuaciones que represente el crecimiento de este microorganismo para ambos períodos de crecimiento (con y sin limitación).
- c) En base a dichas ecuaciones, plantee los balances para todos los componentes.
- d) ¿Qué ocurrirá con q_{O_2} , con el rendimiento celular y con el q_{CO_2} luego de la limitación?

5.- En base al modelo planteado en el problema 4 diga que ocurrirá con el rendimiento celular y con la velocidad de consumo de O₂ ante los siguientes cambios en el medio de cultivo.

- a) Agregado de un desacoplante de cadena respiratoria
- b) Agregado de aminoácidos (Casaminoácidos)
- c) Disminución del pH de su valor óptimo de 5 a 2.7.