



GUÍA DE ESTUDIO PARA EL EXAMEN DE ADMISIÓN A LA MAESTRÍA EN BIOTECNOLOGÍA

MICROBIOLOGÍA

1. Introducción: Panorama general de la microbiología.
 - 1.1 Historia y desarrollo de la microbiología.
 - 1.2 Taxonomía y relaciones evolutivas entre microorganismos.
2. Características generales de los microorganismos.
 - 2.1 Diferencias estructurales entre la célula procariota y eucariota.
 - 2.2 Características generales y clasificación de algas, protozoarios y virus.
3. Bacterias y arqueas
 - 3.1 Morfología y estructura celular.
 - 3.2 Reproducción asexual y parasexual.
 - 3.3 Clasificación.
 - 3.4 Grupos importantes en Biotecnología.
4. Hongos
 - 4.1 Morfología y estructura celular.
 - 4.2 Clasificación y reproducción.
 - 4.3 Géneros importantes en Biotecnología.
5. Nutrición microbiana
 - 5.1 Requerimientos nutricionales.
 - 5.2 Clasificación con base en requerimientos energéticos y nutricionales.
 - 5.3 Clasificación de medios de cultivo.
 - 5.4 Formulación y balance de medios de cultivo; relación C/N; rendimiento celular ($Y_{x/s}$).
6. Definición y descripción de factores ambientales importantes para el cultivo microbiano.
 - 6.1 Clasificación de microorganismos en función de su medio ambiente.

- 6.2 Temperatura y pH.
- 6.3 Presión osmótica y actividad de agua.
- 6.4 Oxígeno.

7. Cinética microbiana.

- 7.1 Métodos de cuantificación de microorganismos.
- 7.2 Descripción del crecimiento de un cultivo. Curva de crecimiento.
- 7.3 Problemas tipo de expresión matemática del crecimiento microbiano en cultivos por lote.

BIBLIOGRAFÍA

Madigan M. T., Bender K. S., Buckley D. H., Stahl D. A. (2015). Brock, Biología de los Microorganismos, 14a Ed. Pearson Educación, S. A.

Madigan M. T., Martinko J. M., Bender K. S., Buckley D. H., Sattley W.M. Stahl D. A. (2018). Brock, Biology of Microorganisms, 15a Ed. Pearson.

Prescott, L.M., Harley, J.P. y Klein, D.A. (2009) Microbiología de Prescott, 7a Ed. McGraw-Hill Interamericana.

Guía de estudio AMPLIADA para el examen de admisión en Microbiología

NOTA. Considere que la biomasa microbiana tiene la siguiente composición: C 50%, N 10%, P 5%, S 3%

1 Formulación y balance de medios de cultivo

1.1. Se desean producir 200 kg de biomasa de *Saccharomyces cerevisiae*. Considerando que el rendimiento celular de la levadura es de 0.45 y, considerando que consume el 100% del sustrato, estime la cantidad de glucosa que debe adicionar al cultivo.

RESPUESTA

El rendimiento celular está dado por la relación:

$$Y_{X/S} = \frac{\Delta X}{\Delta S} = \frac{X - X_0}{S_0 - S}$$

Donde, $Y_{X/S}$ es el rendimiento celular, ΔX es la biomasa producida y ΔS es el sustrato consumido.

X es la biomasa al final del cultivo y X_0 es la biomasa al inicio del cultivo.

S es el sustrato al final de cultivo y S_0 es el sustrato al inicio del cultivo.

Con base en lo anterior, tenemos que:

$$\Delta X = 200 \text{ kg } X$$

$$Y_{X/S} = 0.45 \text{ [kg } X/\text{kg } S]$$

$\Delta S = ? \text{ kg } S$, como se consume todo el sustrato, al final del cultivo no hay sustrato.

Por lo tanto $S = 0$

Entonces, despejamos ΔS y sustituimos valores en la relación del rendimiento celular:

$$\Delta S = \frac{200 \text{ kg } X}{0.45 \text{ kg } X/\text{kg } S} \Rightarrow \underline{\Delta S = 444.4 \text{ kg } S}$$

1.2. Formule un medio de cultivo para un microorganismo heterótrofo aerobio que tiene un rendimiento celular de 0.4. Calcule la cantidad de fuente de C, N, P y S para producir 10 g/L de biomasa, considerando que se consume el 75% de la fuente de carbono. Considere el uso de sacarosa, extracto de levadura (8.6% de N), KH_2PO_4 y K_2HSO_4 . Obtenga la relación C/N del medio.

RESPUESTA

Con base en la nomenclatura descrita en el problema 1.1, primero revisaremos cuáles son los datos que tenemos y cuáles los que nos piden en el problema:

$$\Delta X = 10 \text{ g/L}$$

$$Y_{X/S} = 0.4$$

$$S_0 = ?$$

$$C/N = ?$$

Primero calcularemos la cantidad de sustrato consumido (ΔS), despejando de la relación de rendimiento celular:

$$\Delta S = \frac{10 \text{ g } X/\text{L}}{0.4 \text{ (g } X/\text{L})/(\text{g } S/\text{L})} = 25 \text{ g } S/\text{L}$$

Pero necesitamos saber la cantidad de fuente de carbono para preparar un litro de medio. Para lo anterior, con el valor que calculamos del sustrato consumido (ΔS) y sabiendo que se consume el 75% del sustrato inicial (al final del cultivo queda el 25%), podemos definir a S en términos de S_0 .

$$S = 0.25 S_0$$

$$\Delta S = S_0 - S \quad \text{Sustituyendo S, tenemos } \Delta S \text{ expresada en términos de } S_0$$

$$\Delta S = S_0 - (0.25 S_0) \quad \text{Factorizando la expresión en términos de } S_0 \text{ y sustituyendo valores}$$

$$25 = S_0 (1 - 0.25) \rightarrow S_0 = 25/0.75 \rightarrow \underline{S_0 = 33.3 \text{ g S/L}}$$

Ahora, para calcular la cantidad de fuentes de N, P y S que necesitamos para preparar un litro de medio, debemos basarnos en la cantidad de biomasa que queremos producir ($\Delta X = 10 \text{ g/L}$):

Fuente de nitrógeno:

La fuente de nitrógeno a emplear es extracto de levadura, el cual contiene 8.6% de N. Debemos además considerar la composición de la biomasa, es decir la cantidad de N en 100 g de biomasa (10%). Con ambos datos, usaremos una ecuación dimensional para calcular la cantidad de extracto de levadura necesaria para preparar un litro de medio.

$$\frac{10 \text{ g X}}{1 \text{ L}} \times \frac{10 \text{ g N}}{100 \text{ g X}} \times \frac{100 \text{ g ext. lev.}}{8.6 \text{ g N}} = \underline{11.6 \text{ g/L de ext. lev.}}$$

Fuente de fósforo y azufre:

Para las fuentes de P y S seguimos el mismo procedimiento que para el N, considerando los pesos moleculares de cada sal y de los elementos necesarios:

$$\text{KH}_2\text{PO}_4 = 136 \text{ g/mol}; \text{P} = 31 \text{ g/mol}$$

$$\text{K}_2\text{HSO}_4 = 175 \text{ g/mol}; \text{S} = 32 \text{ g/mol}$$

$$\frac{10 \text{ g X}}{1 \text{ L}} \times \frac{5 \text{ g P}}{100 \text{ g X}} \times \frac{136 \text{ g KH}_2\text{PO}_4}{31 \text{ g P}} = \underline{2.2 \text{ g/L de KH}_2\text{PO}_4}$$

$$\frac{10 \text{ g X}}{1 \text{ L}} \times \frac{3 \text{ g S}}{100 \text{ g X}} \times \frac{175 \text{ g K}_2\text{HSO}_4}{32 \text{ g S}} = \underline{1.6 \text{ g/L de K}_2\text{HSO}_4}$$

Finalmente, para calcular la relación carbono/nitrógeno (C/N) del medio, debemos calcular la cantidad de C que aporta la sacarosa inicial y la cantidad de N que aporta el extracto de levadura (OJO: la relación C/N se calcula para el medio de cultivo):

$$\frac{33.3 \text{ g Sac}}{1 \text{ L}} \times \frac{144 \text{ g C}}{342 \text{ g Sac}} = \underline{14.0 \text{ g C/L}}$$

$$\frac{11.6 \text{ g ext. lev.}}{1 \text{ L}} \times \frac{8.6 \text{ g N}}{100 \text{ g ext. lev.}} = \underline{1.0 \text{ g N/L}}$$

Dividimos la cantidad de C entre la cantidad de N y obtenemos la relación C/N del medio de cultivo:

$$\frac{14.0 \text{ g C}}{1.0 \text{ g N}} = \underline{14 \text{ g C/g N}}$$

2 Cinética microbiana

- 2.1 Se inocula un reactor con *Lactobacillus acidophilus* en una concentración inicial de 2 g/L. Considerando que la bacteria tiene un tiempo de duplicación (t_d) de 64 min y que la fase exponencial no termina, calcule: (a) la tasa específica de crecimiento (μ); (b) el tiempo que tarda el cultivo en alcanzar una concentración de biomasa de 20 g/L; (c) el número de generaciones (n).

RESPUESTA

Durante la fase de crecimiento exponencial de un cultivo, la tasa específica de crecimiento (μ) está definida por las siguientes ecuaciones:

$$X = X_0 e^{\mu t} \quad (1) \qquad \ln X - \ln X_0 = \mu t \quad (2) \qquad \mu = \frac{0.693}{t_d} \quad (3)$$

Donde, X_0 y X es la biomasa al inicio y al final de la fase exponencial, respectivamente.

t es el tiempo que dura la fase exponencial, t_d es el tiempo de duplicación y n es el número de generaciones. Dichas variables se relacionan entre sí, mediante la siguiente relación:

$$t/t_d = n = \frac{\ln X - \ln X_0}{0.693} \quad (4)$$

Con base en lo anterior, tenemos que:

$$\begin{array}{ll} X_0 = 2 \text{ g/L} & \mu = ? \\ X = 20 \text{ g/L} & n = ? \\ t_d = 64 \text{ min} & t = ? \end{array}$$

Primero, calculamos la tasa específica de crecimiento, utilizando la ecuación (3):

$$\mu = 0.693/64 \text{ min} \rightarrow \underline{\mu = 0.011 \text{ min}^{-1} = 0.65 \text{ h}^{-1}}$$

El tiempo que tarda el cultivo en alcanzar una concentración de biomasa de 20 g/L corresponde al tiempo que dura la fase *Exp* (t) entonces, una vez que hemos calculado μ , despejamos t de la ecuación (2):

$$t = \frac{\ln(20) - \ln(2)}{0.65 \text{ h}^{-1}} \rightarrow \underline{t = 3.5 \text{ h}}$$

Una vez que calculamos t , podemos estimar n con la ecuación (4):

$$n = t/t_d \rightarrow n = (3.5 \text{ h})/(1.07 \text{ h}) \rightarrow \underline{n = 3.3 \text{ generaciones}}$$

- 2.2 En un experimento de laboratorio, se cuantificó el crecimiento de *Escherichia coli* cada hora y se obtuvieron los datos que se muestran en la tabla. Con base en ellos, calcule: (a) la tasa específica de crecimiento (μ); (b) el tiempo que tarda en duplicarse la población de *E. coli*, y (c) el número de generaciones.

RESPUESTA

Primero revisaremos cuáles son los datos que nos piden en el problema:

$$\mu = ?$$

$$t_d = ?$$

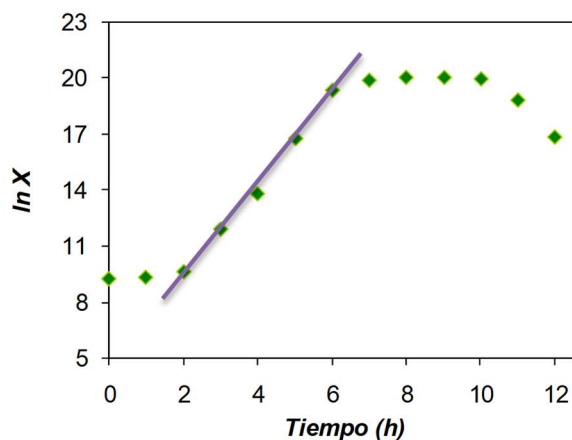
$$n = ?$$

Obtener información sobre la tasa de crecimiento a partir de curvas aritméticas es difícil. Con base en lo anterior, es conveniente expresar los resultados experimentales en forma semilogarítmica. Así es posible obtener, en una gráfica de $\ln(X)$ vs. tiempo, la fase de crecimiento exponencial en forma lineal.

Entonces, en primer lugar, debemos calcular el $\ln$ de los datos de biomasa (X) mostrados en la tabla.

Tiempo (h)	X (no. células)	$\ln X$
0	1.0E+04	9.2
1	1.1E+04	9.3
2	1.5E+04	9.6
3	1.5E+05	11.9
4	1.0E+06	13.8
5	1.9E+07	16.7
6	2.6E+08	19.4
7	4.2E+08	19.9
8	4.8E+08	20.0
9	4.9E+08	20.0
10	4.5E+08	19.9
11	1.5E+08	18.8
12	2.0E+07	16.8

Una vez obtenidos los $\ln$ de la biomasa, debemos elaborar una gráfica de $\ln(X)$ vs. tiempo e identificar la fase de crecimiento exponencial.



En la gráfica, puede observarse que la fase *Exp* de crecimiento ocurre entre las 2 y las 6 h de cultivo. Por lo tanto, es en esa región donde debemos calcular μ .

Con base en los fundamentos teóricos de cinética microbiana, en una gráfica semilogarítmica de $\ln(X)$ vs. tiempo, y reordenando la ecuación (2):

$$\ln X = \mu t + \ln X_0$$

Obtenemos una ecuación que corresponde a una línea recta ($Y = mX + b$), donde μ es la pendiente.

Así, para obtener μ a partir de los datos, calculamos la pendiente (mediante regresión lineal) en la región indicada:

$$\text{Pendiente (m)} = 2.43 \text{ h}^{-1} \rightarrow \mu = 2.43 \text{ h}^{-1}$$

De la ecuación (3) sabemos que: $\mu = 0.693/t_d \rightarrow t_d = 0.29 \text{ h}$

Finalmente, para calcular el número de generaciones, partimos de la ecuación (4):

En donde t es el tiempo que dura la fase *Exp*, es decir, de las 2 a las 6 h del cultivo, entonces $t = 6 \text{ [h]} - 2 \text{ [h]} = 4 \text{ h}$

$$n = 4 \text{ h} / 0.29 \text{ h} \rightarrow n = 14$$