

EXAMEN PARCIAL DE MICROBIOLOGÍA INDUSTRIAL

ALUMNO:

11 de Junio de 2013

- 1) Se incubó en un fermentador batch cierto microorganismo, obteniendo los siguientes datos de DO a 640 nm:

t(min)	Control	A	B	Log (Control)
0	0,04	----	----	-1,40
30	0,08	----	----	-1,10
60	0,19	----	----	-0,72
90	0,43	----	----	-0,37
120	0,91	0,91	0,91	-0,04
150	1,82	0,001	1,02	0,26
180	2,75	0,001	1,1	0,44
210	2,64	0,001	1,2	0,42

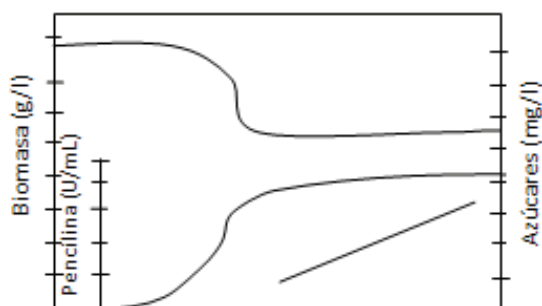
Dato: $\ln(x) = 2,303 \log(x)$

- Calcule la velocidad específica de crecimiento y exprese la en las unidades que correspondan.
- ¿De qué **tipo** de microorganismo podría tratarse? ☐ Hongo Filamentoso ☐ Bacteria ☐ Levadura. Justifique su respuesta.
- A los 120 minutos se agregaron dos antibióticos A y B. ¿De qué **tipo** de antibiótico podría tratarse? Justifique su respuesta.
- ¿Qué sucedería si la incubación no se hubiese realizado a la temperatura óptima de crecimiento del microorganismo? Muéstrela gráficamente.

- 2) Determine si las siguientes afirmaciones son verdaderas o falsas, justificando en este último caso:

- Cuando las enzimas se desnaturalizan, cambia su secuencia de aminoácidos sin perder su especificidad y sitio activo.
- Todas las enzimas precisan cofactores para ser activadas y poder actuar sobre el sustrato.
- Todas las enzimas hidrolasas degradan al almidón en estructuras más simples.
- No todas las enzimas son específicas respecto al sustrato sobre el cual ejercen su acción.
- Las enzimas tienen una temperatura óptima para su actividad.

- 3) Se incubó en un fermentador batch *Penicillium Chrysogenum* obteniendo los siguientes resultados:



Se utilizaron los siguientes azúcares: glucosa y lactosa. Se midieron los siguientes parámetros en función del tiempo: concentración de azúcares, penicilina, biomasa. Si el gráfico que se obtuvo es el que se adjunta a la izquierda: **a)** Indicar, justificando la respuesta, a qué curva corresponde cada parámetro. Explicar la tendencia de cada curva. **b)** ¿Qué hubiese ocurrido si se colocara sólo como azúcar glucosa? **c)** ¿La fermentación fue aeróbica o anaeróbica? ¿Por qué?

4) Colocar verdadero o falso justificando en este último caso:

- Los ascos pueden encontrarse desnudos o incluidos en estructuras especiales llamadas ascocarpos.
- La dicariofase o estado dicariótico es una etapa ineludible en la formación de una zigoespora.
- La quitina es el componente mayoritario en la pared celular de todos los hongos.
- En la FES el control de pH y a_w es continuo y se puede ajustar durante la fermentación.
- En el TP de FES la inoculación de conidios de *Aspergillus Oryzae* fue un proceso continuo.
- En FES se trabaja generalmente en condiciones no estériles.
- La reacción de Voges Proskauer permite identificar actividad proteolítica en un cultivo bacteriano.
- Con el agar almidón se pueden detectar microorganismos con actividad lipolítica.
- La campana de Durham sirve para observar la producción de gas por fermentación de azúcar.
- El reactivo de Kovacs se usa para ver actividad proteolítica.

5)

- a) Indique con una X las opciones correctas para observar las siguientes características de un cultivo bacteriano:

		OBSERVACIÓN			
		MOVILIDAD	AGRUPACIÓN CELULAR	FORMA Y TAMAÑO CELULAR	ESTRUCTURA DE LA PARED
PREPARADO	Fresco				
	Coloración simple				
	Coloración de Gram				
	Coloración de esporas				
MICROSCOPIO	Objetivo 10X				
	Objetivo 25X				
	Objetivo 40X				
	Objetivo 100X				
	Objetivo 100X con aceite de inmersión				

- b) Marque con una X los conceptos relacionados:

	Proceso amylo	Lipasas	Rennilasa	Ácido Cítrico	Penicilina	Glucoamilasa
<i>Aspergillus Niger</i>						
<i>Aspergillus Oryzae</i>						
<i>Penicillium Notatum</i>						
<i>Penicillium Roqueforti</i>						
<i>Mucor Rouxii</i>						
<i>Rhizomucor Miehei</i>						
<i>Rhizopus Rouxii</i>						

6) Indique V o F:

- a) En la inmovilización de enzimas mediante unión covalente deben intervenir los aminoácidos del sitio activo.
- b) Las bacterias de una misma especie no pueden intercambiar información genética ya que no se reproducen sexualmente.
- c) La inmovilización del biocatalizador no es recomendable para procesos continuos.
- d) Los plásmidos son moléculas circulares de RNA que llevan genes de resistencia a antibióticos.
- e) Los hongos filamentosos no pueden ser inmovilizados.

7) Complete las siguientes frases:

- Un plásmido debe tener un y llevar genes de para poder seleccionar a las bacterias que incorporaron el plásmido. Las bacterias pueden incorporar ADN según tres procesos denominados , y Las bacterias capaces de incorporar ADN desnudo se llaman
- En el Trabajo práctico se inmovilizó mediante la técnica usando como soporte para verificar actividad

8) Marcar la o las respuestas correctas:

1) La vía EMP:

- a. Ocurre en la matriz mitocondrial de eucariotas
- b. No existe en procariotas
- c. No produce ATP
- d. Todas son verdaderas
- e. Ninguna es verdadera

2) Durante el anabolismo:

- a. Se consume NADPH
- b. Se genera NADPH
- c. Se producen moléculas precursoras de ácidos nucleicos.
- d. Todas son verdaderas
- e. Ninguna es verdadera.

3)

- a. Durante la espiración aeróbica el sustrato carbonado se oxida totalmente.
- b. Durante la fermentación el sustrato carbonado no se oxida totalmente.
- c. Durante la respiración anaeróbica el último aceptor de electrones no es el O_2
- d. Todas son verdaderas.
- e. Ninguna es verdadera

4) Los hongos filamentosos son:

- a. Quimiolitoheterotrofos
- b. Quimioorganoautotrofos
- c. Quimiorganoheterotrofos
- d. Todas son verdaderas
- e. Ninguna es verdadera

5) La conexión entre EMP y PPP se da a través de :

- a. La fructosa
- b. La glucosa 6-P
- c. El gliceraldeído 3-P
- d. Todas son verdaderas
- e. Ninguna es verdadera.

6) La vía glicolítica ED se da:

- a. En eucariotas anaerobios
- b. En procariotas aerobios
- c. Solamente en bacterias gram(+) y levaduras
- d. Todas son verdaderas
- e. Ninguna es verdadera.

- 7) En el ciclo de Krebs:
- a. No se produce en procariotas porque carecen de mitocondrias.
 - b. Se produce en las crestas mitocondriales.
 - c. Se forman ácidos carboxílicos de 7 u 8 átomos de carbono.
 - d. Todas son verdaderas.
 - e. Ninguna es verdadera.

- 8) En la cadena respiratoria:
- a. Se usa como sustrato NADH
 - b. Se usa como sustrato FADH_2
 - c. Se obtiene H_2O como producto.
 - d. Todas son verdaderas
 - e. Ninguna es verdadera.

- 9) Durante la respiración aeróbica el CO_2 se forma:
- a. En el pasaje de glucosa 6-P a fructosa 6-P
 - b. En el pasaje de piruvato a acetil-COA
 - c. En cada vuelta del ciclo de Krebs
 - d. Todas son verdaderas
 - e. Ninguna es verdadera

- 10) En la cadena respiratoria:
- a. Se producen 3ATP por mol de NADH
 - b. Se producen 2 ATP por mol de FADH_2
 - c. Sólo se transportan electrones.
 - d. Todas son verdaderas
 - e. Ninguna es verdadera.

Primer parcial de microbiología Industrial -2001

Parte Práctica

1) Un inóculo de *P. aeruginosa* en caldo de carne, se sembró al 5% v/v en un fermentador *batch* conteniendo el mismo medio de cultivo.

a) Defina y calcule el tiempo de duplicación del cultivo de *P. aeruginosa*, según los datos de la tabla:

Tiempo (horas)	UFC/ml	Log (UFC/ml)
0,0	$1 \cdot 10^3$	3,00
1,0	$2 \cdot 10^3$	3,30
1,5	$1 \cdot 10^4$	4,00
2,0	$3 \cdot 10^5$	5,48
2,5	$1 \cdot 10^7$	7,00
3,0	$2 \cdot 10^7$	7,30
4,0	$3 \cdot 10^7$	7,48
5,0	$3 \cdot 10^7$	7,48

También estaba el gráfico correspondiente al cuadro anterior (Log(UFC) vs. Tiempo).

b) En base al valor del tiempo de duplicación obtenido, ¿podría calcular o estimar el tiempo que tarda cada célula en reproducirse?

c) Indique si se modificaría -y cómo- la curva de crecimiento si:

- Se redujera al 10% la concentración de los nutrientes del medio de cultivo del fermentador.
- El inóculo se hubiera desarrollado en un medio distintos del medio de fermentación (por ej. en un medio definido).
- Si se agregara un bactericida al cabo de 2hs de incubación.

2) Diseñe un protocolo para aislar cuatro diferentes especies bacterianas presentes en una muestra de agua que reúnen las siguientes características:

- Especie 1: Bacilos Gram (-), formador de esporas, aerobio estricto, glucosa +, hidrólisis de almidón +.
- Especie 2: Cocobacilos Gram (-), anaerobio facultativo, glucosa +.
- Especie 3: Cocobacilos Gram (-), anaerobio facultativo, glucosa +, lactosa +.
- Especie 4: Bacilos Gram (-), aerobio estricto, glucosa +.

Si su protocolo incluye algún tipo de instrumental óptico, especifique sus características y condiciones de observación.

3) Considere si las siguientes afirmaciones son verdaderas o falsas. En ambos casos, justifique su respuesta.

- a) La escasa penetración de las radiaciones impide su utilización en la preservación de alimentos.
- b) La efectividad de un tratamiento térmico dado sobre los microorganismos no es independiente del medio que los contiene.
- c) La ozonización puede utilizarse para esterilizar medios de cultivo con alta concentración de azúcares, evitando así la alteración de sus propiedades.

- d) Cada sistema microorganismo-antimicrobiano está caracterizado por una única concentración mínima inhibitoria.
- e) La radiación UV no es un método adecuado para la esterilización del material de laboratorio descartable.
- f) El proceso de desnitrificación es llevado a cabo por microorganismos anaerobios estrictos no reductores de sulfato.
- g) El reactivo de Peter Griess es un componente del caldo nitrado que permite comprobar el desarrollo de microorganismos reductores de nitratos.
- h) Las especies del género *Penicillium* producen esporas en conidióforos globosos.
- i) *Aspergillus oryzae* puede producir α -amilasa utilizada en el proceso amilo.
- j) Las zigosporas son esporas asexuales solitarias del género *Rhizopus*.

Parcial de Microbiología Industrial -1er recuperatorio- 24/11/11

1)Procesamiento de una partida de leche.

a)Analizar los resultados obtenidos

b)¿Cuál proceso fue el más eficaz?

c)¿A qué microorganismos corresponden (PCA 37°C 48hs y Cámara de Neubauer)

d)¿Qué es tiempo de reducción decimal? Plantear la ecuación.

	Leche cruda	Proceso HTST	Filtración y proceso HTST
PCA 37°C 48hs	1,00E+007	1,00E+005	1,00E+001
Cámara de Neubauer	1,00E+004	1,00E+004	No se encontraron

2)Cómo esterilizarías los siguientes objetos:

a)recipientes de vidrio.

b)herramientas de plástico

c)tubos con medio de cultivo

d)fermentador de 2l

e)Na₂SO₄ anhidro (sólido)

3)Se tiene un cultivo de *Bacillus subtilis* y se quiere averiguar si su metabolismo descompone almidón y/o triptófano. ¿Qué pruebas realizarían para esto y qué resultados esperarían encontrar?

4)a)¿Cómo podemos observar estas características? Completar con una X donde corresponda.

	Movilidad	Agrupación celular	Forma celular	Pared celular
Fresco				
Coloración simple				
Coloración Gram				
Coloración de esporas.				
Microscopio	-----	-----	-----	-----
10X				
40X				
100X				
100X + aceite de cedro				

b)¿Qué microscopio usaría para observar los siguientes preparados?

i)Células de tejido animal fresco.

ii)Una organela como la mitocondria.

iii) -

iv)Células de *Saccharomyces cerevisiae*.

5)a)Rellenar con una cruz donde corresponda

	Amilasa	Ácido cítrico	Lipasas	Rennilasa	Antibiótico
<i>Aspergillus niger</i>					
<i>Aspergillus oryzae</i>					
<i>Penicillium roqueforti</i>					
<i>Penicilium chrysogenum</i>					
<i>Rhizomucor miehei</i>					

b)verdadero y falso sobre FES

6)verdadero y falso sobre inmovilización de biocatalizadores

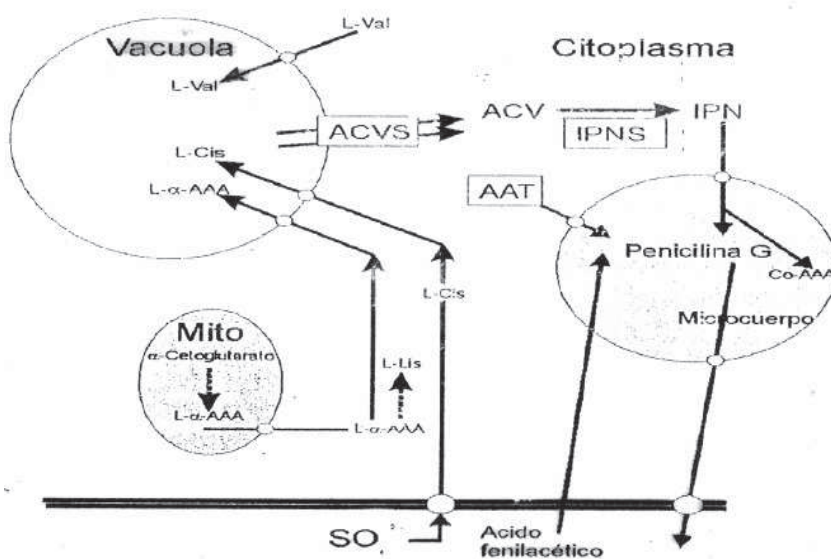
7)Ecuaciones de la velocidades específicas de formación de biomasa y de consumo de sustrato.
Tiempo de duplicación.

8)Completar el diagrama:

(la diapositiva 32 de Antibióticos)

Compartimentalización

Las vías de biosíntesis de penicilinas ocurren en compartimientos diferenciados dentro de una célula eucarionte.
(El ejemplo proviene del análisis de *Penicillium chrysogenum*.)



1° Parcial de Microbiología Industrial

Temas teóricos

1) Señale con una E los componentes y estructuras pertenecientes a células eucariotas y con una P los que pertenecen a células procariotas.

*Flagelos	*Plásmidos	*Asca	*Enzimas
*Mureína	*Citocromos	*ATP	*Pigmentos
*Matriz mitocondrial	*Espacio periplásmico	*Ribosomas	*Cloroplastos
*Mesosomas	*Quitina	*Micelio	*NAD
*Núcleo	*Ácido adípico	*Cromosoma	*Membrana citoplasmática

2) Una partida de latas de tomate fue esterilizada en autoclave, según un programa de esterilización en que se alcanzaba 80°C durante un tiempo de retención de 100 minutos. Al realizar los controles de esterilización, se observó la presencia de contaminantes bacterianos. Conteste:

- ¿Cómo verificó la presencia de contaminación?
- Según lo expuesto, ¿qué características poseen los contaminantes?
- Menciona la o las causas posibles de contaminación.
- ¿Qué sugeriría para impedir la contaminación del producto?

3) Señale las diferencias en la composición y estructura de la pared celular de las bacterias Gram positivas y Gram negativas.

4) Se cultivó la misma especie bacteriana en distintos medios de cultivo y condiciones.

- Medio de cultivo: caldo nitrado. Cultivo con aireación
- Medio de cultivo: caldo nitrado. Cultivo sin aireación.
- Medio de cultivo: caldo nutritivo. Cultivo con aireación.
- Medio de cultivo: caldo nutritivo. Cultivo sin aireación.

Indique el tipo de metabolismo que ha tenido lugar en los distintos cultivos. ¿Qué factores han influido sobre el desarrollo bacteriano obtenido en cada caso? Méncionelos y explique detalladamente su efecto.

Gráficos de los cultivos.

5) Señale brevemente la relación existente entre el proceso de respiración y la síntesis de ATP.

Temas prácticos

1-En base a los datos que se dan a continuación, obtenidos en el TP, calcule el tiempo de duplicación en fase exponencial. Indique, además, la duración en horas de las fases *lag* y de crecimiento exponencial.

Tiempo (horas)	D.O.
0,00	0,019
0,50	0,032
1,00	0,065
1,50	0,160
2,00	0,331
2,50	0,548
3,00	0,780
3,50	0,895

2-Se realiza una fermentación *batch* con el fin de obtener levaduras como fuente de proteína para la producción de un alimento balanceado:

- Si se dispone de un inóculo de 24hs, ¿cómo procedería para determinar la pureza del mismo, en el momento, antes de agregarlo al fermentador?
- Si confirma que el mismo está contaminado con una cepa de *Escherichia coli*, ¿qué procedimiento/s seguiría? (Justifique brevemente su respuesta)
 - Desechar el inóculo, sembrar otro y postergar 24hs la fermentación.
 - Autoclavar el inóculo y agregarlo luego al fermentador.
 - Agregar un antibiótico (en ese caso, decir cuál) al fermentador.
 - Agregar NaClO al fermentador.
- ¿Cómo convendría que fuese la duración de la fase *lag*? Justifique.
- ¿En qué fase de la curva detendría la fermentación? Justifique.

3-Luego del proceso de elaboración de un alimento líquido para niños (pH 6.9) se tomaron muestras de tres partidas diferentes y se comprobó la existencia de tres tipos de contaminación: bacterias esporuladas termófilas, levaduras y bacterias psicrófilas; siendo la carga inicial en cada muestra de 5×10^5 UFC/ml. Alícuotas de cada muestra fueron sometidas a distintos métodos de esterilización/preservación y los resultados posteriores se volcaron en la siguiente tabla:

Muestra	UFC/ml					
	Pasteurización	Radiación U.V.	Filtración membrana 0,4µm	Ozonización	Autoclavado 121°C 15min	Ácido orgánico 10%
A	<2	3×10^5	<4	<2	<1	4×10^5
B	<1	6×10^5	2×10^5	<2	<3	3×10^5
C	2×10^5	4×10^5	1×10^5	<1	<3	7×10^5

Indique:

a)¿Qué tipo de contaminación es mayoritaria en cada muestra y por qué?

b)Si el alimento estuviera enriquecido con vitaminas, ¿qué partida destinaría a la venta y por qué método la preservaría?

4)V o F. Jutifique brevemente en ambos casos su respuesta.

a)En los microorganismos, la tolerancia ante el oxígeno está determinada por las variaciones en su membrana.

b)La reacción de Peter Griess sobre un mismo cultivo puede dar diferentes resultados dependiendo del tiempo de incubación.

c)En la fermentación alcohólica, el aceptor final de electrones y protones es el O₂.

d)El método de determinación de la producción de gas usando la campana de Durham, es un método no cuantitativo.

e)El reactivo de lugol se agrega en el test de amilasas como activador de la actividad enzimática.

f)Las enzimas proteolíticas son intracelulares, mientras que las que degradan aminoácidos son extracelulares.

g)Una de las aplicaciones de las pruebas bioquímicas (metabolismo) es su utilización en los medios de cultivos diferenciales.

h)La hidrólisis de azúcares reductores es una reacción típicamente anabólica.