

Engenharia Bioquímica

Aula 2

22 de Fevereiro de 2012

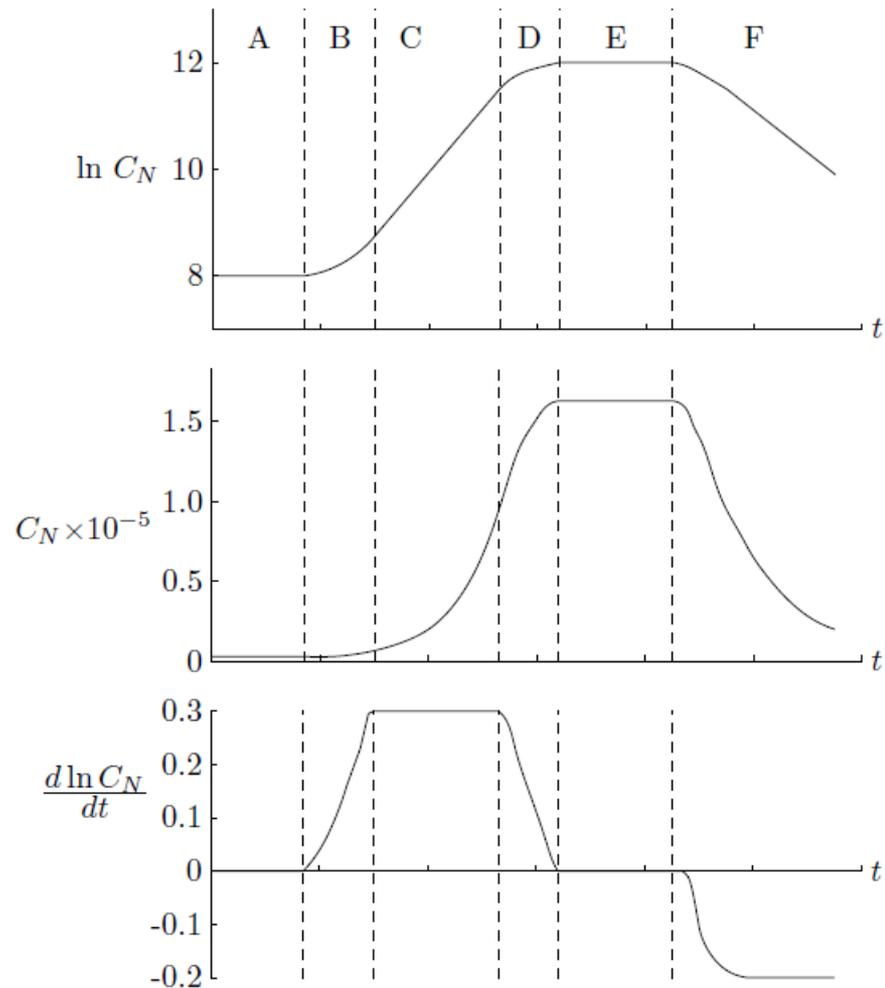
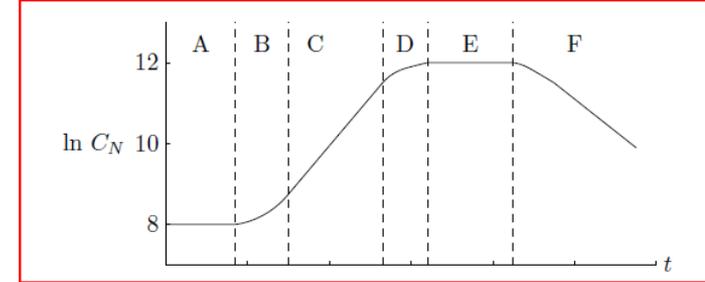


Figure 6.1 Typical growth curve of unicellular organisms: (A) lag phase; (B) accelerated growth phase; (C) exponential growth phase; (D) decelerated growth phase; (E) stationary phase; (F) death phase.



A. Fase Lag

- Período de tempo em que o número de células não aumenta

B. Fase de crescimento acelerado

- O número de células começa a aumentar e a taxa de divisão aumenta até atingir um máximo

C. Fase exponencial

- O número de células cresce exponencialmente
- dC/dt aumenta (taxa de crescimento aumenta)
- $d \ln C/dt = \text{constante}$ (taxa específica de crescimento constante = taxa de divisão constante)

D. Fase de crescimento desacelerado

- A. Taxas de crescimento e de divisão começam a diminuir

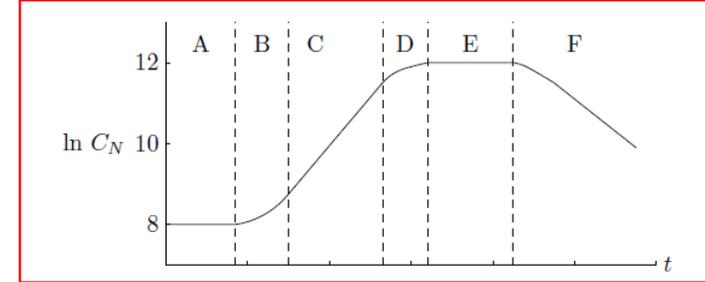
E. Fase estacionária

- A. O número de células atinge o máximo e deixa de aumentar

F. Fase de declínio

- Os nutrientes são todos consumidos e as células começam a morrer

Fase LAG



- Período em que não há alteração no número de células
- Apesar do número não aumentar poderá haver aumento do volume das células
- A duração poderá depender de muitos factores
 - Tipo de microrganismos
 - Idade dos microrganismos
 - Volume do inoculo
 - Condições do meio de cultura
- As células necessitam de se adaptar ao novo meio antes de se iniciar o crescimento (divisão)
 - Células provenientes de um meio com concentração baixa de nutrientes para meio rico em nutrientes – Fase Lag Longa
 - Células de meio concentrado para meio menos concentrado – Fase Lag inexistente
- Na fase Lag as células produzem as enzimas necessárias para metabolizar os nutrientes presentes
- Se o volume de inóculo é pequeno (em relação ao volume do fermentador) – Fase LAG aumenta
 - Como queremos fase LAG reduzida....
 - Série de fermentadores cada vez maiores
- A Fase B... fase de crescimento acelerado é normalmente incluída na fase Lag
 - Nesta fase começa o crescimento celular... cada vez mais acelerado até atingir a fase exponencial

Taxa de divisão vs Taxa de Crescimento

Taxa de divisão = número de divisões / unidade de tempo

Taxa de Crescimento = dC / dt

São a mesma coisa?

Se para $t=0$ tivermos $C=C_0$

Passado um dado tempo teremos $C = C_0 \times 2$

Se as células após um período de tempo (t) se dividirem n vezes teremos

$C = C_0 \times 2^n$ sendo a taxa média divisão dada por $\underline{\delta} = n/t$

$$n = \log_2 C - \log_2 C_0$$

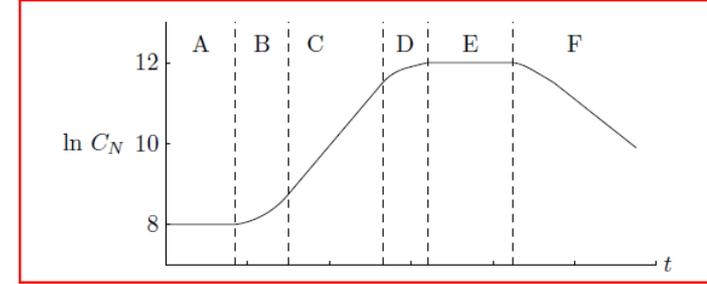
Ou seja

$$\underline{\delta} = 1/t \times (\log_2 C - \log_2 C_0)$$

Para um dado instante t $\delta = \frac{d \log_2 C}{dt}$

Que é diferente da taxa de crescimento...

Fase exponencial (C)



- Em mo unicelulares a duplicação celular resulta num aumento crescente da taxa de crescimento

$$\frac{dC}{dt} = \mu C$$

Sendo μ a taxa de crescimento específico (t^{-1})

Não confundir com a taxa de crescimento!

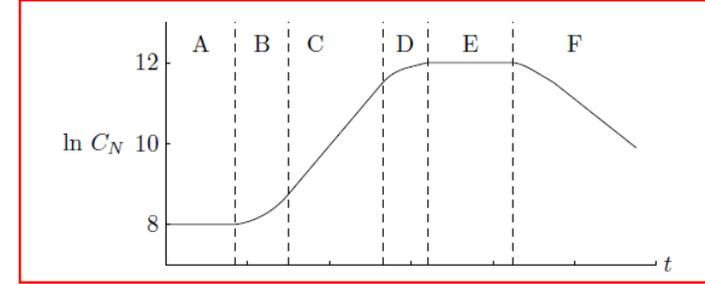
Taxa de crescimento é a variação do número de células com o tempo enquanto que

$$\mu = \frac{1}{C} \frac{dC}{dt} = \frac{d \ln C}{dt}$$

Comparando com a equação da taxa de divisão... $\delta = \frac{d \log_2 C}{dt}$

$$\mu = \frac{d \ln C}{dt} = \ln 2 \left(\frac{d \log_2 C}{dt} \right) = 2\delta$$

Fase exponencial (C)



Sendo μ constante na fase exponencial podemos obter uma expressão para a evolução do número de células na fase exponencial integrando a equação....

$$\frac{dC}{dt} = \mu C$$

considerando C_0 no início t_0 da fase exponencial..

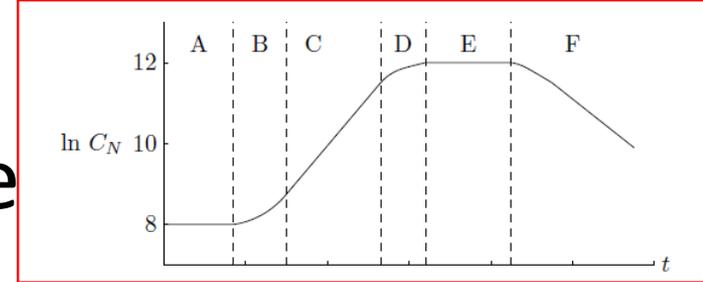
$$\int_{C_0}^C \frac{dC}{C} = \int_{t_0}^t \mu dt$$

o que permite obter... $C = C_0 \exp [\mu(t - t_0)]$

O tempo necessário para duplicar a população de m_0 pode ser calculado substituindo C por $2 \times C_0$ e considerando $t_0 = 0$ determinamos o valor de t

$$t_d = \frac{\ln 2}{\mu} = \frac{1}{\delta}$$

Fase estacionária e de morte



- O crescimento de μ é limitado ou pela falta de nutrientes ou pela acumulação de produtos do metabolismo que são tóxicos
- A taxa de crescimento começa a diminuir e acaba por parar
 - Fase estacionária
- Na transição da fase exponencial para a fase estacionária existe um período de crescimento desequilibrado em que os vários componentes são sintetizados a velocidades diferentes
 - As células na fase estacionária têm composição diferente da fase exponencial
- Depois vem a fase de declínio (morte)
 - A morte ocorre devido ao gasto das reservas energéticas ou acumulação de produtos tóxicos
 - Os μ também se podem desintegrar – lise celular
 - A fase de declínio pode ser descrita como exponencial

TABLE 2.1. Some representative values of μ_{max} (obtained under the conditions specified in the original reference) for a range of organisms

Organism	μ_{max} (h^{-1})	Reference
<i>Vibrio natriegens</i>	4.24	Eagon (1961)
<i>Methylomonas methanolytica</i>	0.53	Dostalek <i>et al.</i> (1972)
<i>Aspergillus nidulans</i>	0.36	Trinci (1969)
<i>Penicillium chrysogenum</i>	0.12	Trinci (1969)
<i>Fusarium graminearum</i> Schwabe	0.28	Trinci (1992)
Plant cells in suspension culture	0.01–0.046	Petersen and Alfermann (1993)
Animal cells	0.01–0.05	Lavery (1990)

TABLE 2.2. *Some representative values of K_s for a range of micro-organisms and substrates*

Organism	Substrate	K_s (mg dm ⁻³)	References
<i>Escherichia coli</i>	Glucose	6.8×10^{-2}	Shehata and Marr (1971)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Glucose	25.0	Pirt and Kurowski (1970)
<i>Pseudomonas</i> sp.	Methanol	0.7	Harrison (1973)

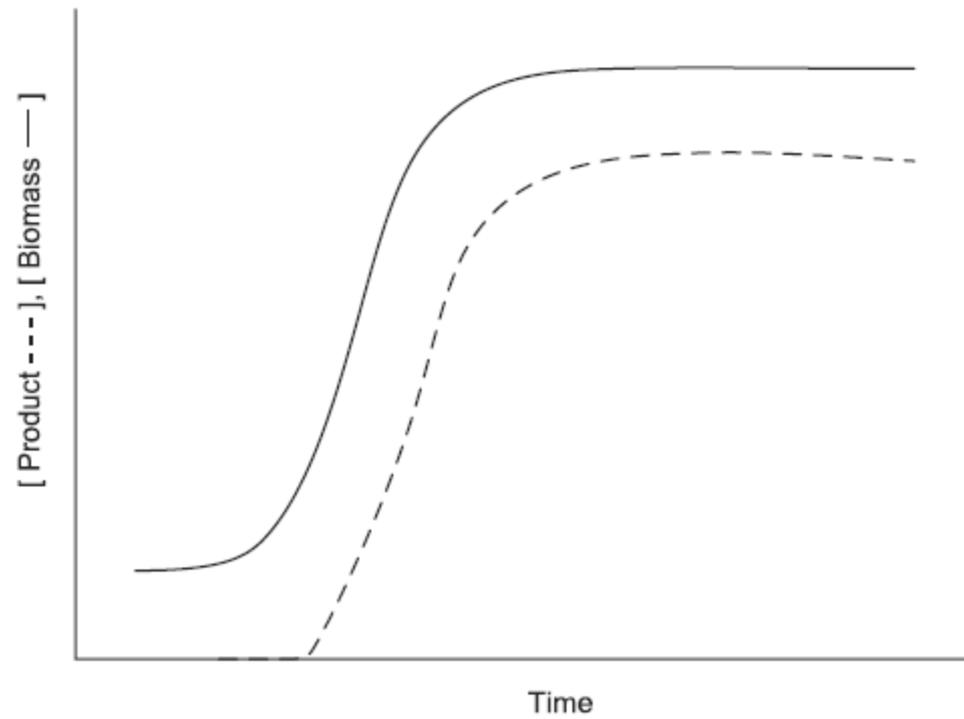


Figure 4.3 *Growth associated product formed during the period of active culture growth*

Table 4.1 Examples of commercially produced primary metabolites

Microorganism	Primary metabolite	Commercial use
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Ethanol	Alcoholic beverage
<i>Corynebacterium glutamacium</i>	Amino acids – glutamic acid and lysine	Food industry – flavour enhancer
<i>Ashbya gossipii</i> and <i>Eremothecium ashbyi</i>	Riboflavin	Food industry – vitamin
<i>Aspergillus niger</i>	Citric acid	Food industry – flavour enhancer and preservative
<i>Xanthomonas campestris</i>	Xanthan gum	Food industry – food additive and rheology modifier
<i>Pseudomonas denitrificans</i> and <i>Propionibacterium shermanii</i>	Vitamin B ₁₂	Food industry – vitamin

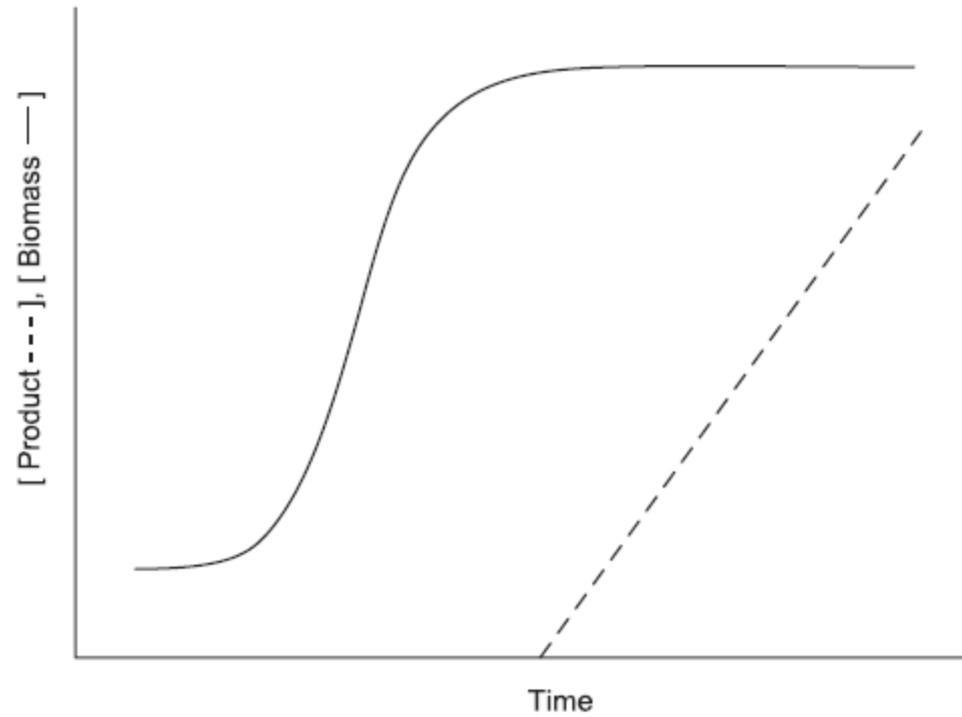


Figure 4.4 *Nongrowth associated product formed during the period of nonculture growth (stationary phase)*

Table 4.2 *Examples of commercially produced secondary metabolites*

Microorganism	Primary metabolite	Commercial use
<i>Penicillium chrysogenum</i>	Penicillin	Antibiotic
<i>Streptomyces erythreus</i>	Erythromycin	Antibiotic
<i>Streptomyces griseus</i>	Streptomycin	Antibiotic
<i>Cephalosporium acrimonium</i>	Cephalosporin	Antibiotic
<i>Gibberella fujikuroi</i>	Gibberellin	Antibiotic
<i>Tolypocladium inflatum</i>	Cyclosporin A	Antibiotic