

Microbiología General

Problemas y cuestiones

1.

Deducir la relación que hay entre el tiempo de generación (τ) y la tasa de crecimiento (μ) de un cultivo a partir de las ecuaciones de crecimiento.

2.

Si partimos de 10^4 ufc/ml en un cultivo que tiene un tiempo de generación de 2 h, ¿cuántas células tendremos al cabo de 4, 24 y 48 h de cultivo?

3.

Calcular el tiempo de generación de un microorganismo en un cultivo que pasa de 2×10^4 ufc/ml a 7×10^5 ufc/ml en 2.5 h.

4.

Calcular la tasa de crecimiento (μ , expresada en h^{-1}) de un cultivo bacteriano que pasa de producir 3.0 g/l de proteína total a producir 10 g/l en 50 min.

5.

a.- La tasa de crecimiento de un cultivo bacteriano es $\mu = 1.5 h^{-1}$. Si partimos de una población inicial de 10^2 ufc/ml, ¿Qué número de bacterias por mililitro (ufc/ml) habrá después de un cultivo de 10 h?. ¿Cuánto es el tiempo de generación del cultivo?.

b.- Cuando finaliza el crecimiento del cultivo anterior porque se agota la fuente de carbono, se recogen las células de un litro de cultivo por centrifugación y se pesan. La biomasa recogida es de 3 g. Si el medio de cultivo tiene como única fuente de carbono el 4 g/l del aminoácido alanina (fórmula $C_3O_2H_7N$) y consideramos la composición general de una célula como $C_4H_7O_2N$, ¿cuánto es rendimiento de la utilización de la alanina en este cultivo? y ¿cuánto es el rendimiento de la utilización del carbono?.

c.- En un experimento paralelo se ha podido determinar que el tratamiento de las células del cultivo anterior a $70^\circ C$ durante 30 min reduce el número de viables de 10^7 ufc/ml a 10^4 ufc/ml. Por otra parte, el tratamiento de dichas células a $75^\circ C$ durante el mismo tiempo produce una reducción de 10^7 ufc/ml a 10^2 ufc/ml. Con estos datos, calcular el tiempo de tratamiento a $120^\circ C$ que es necesario aplicar a 100 ml del cultivo descrito en el apartado "a" al cabo de las 10 h de cultivo para que el número de células viables (ufc/ml) quede reducido a menos de 1 ufc/ml.

d.- ¿En qué condiciones de aireación debió realizarse el cultivo anterior?

6.

Una bacteria determinada tiene un tiempo de generación de 20 min. a temperatura ambiente en un alimento dado. Supongamos que partimos de una carga microbiana de 10^2 bacterias por gramo y mantenemos el alimento a temperatura ambiente durante 12 horas antes de someterlo a tratamiento térmico. Si el valor de $D_{90} = 15$ min. y $z = 20^\circ C$, calcular el número de bacterias por gramo que sobrevivirán a un tratamiento de cuatro minutos de duración igual a $120^\circ C$.

Microbiología General
Problemas y cuestiones

7.

Calcular el tiempo de generación de un cultivo a partir de los datos siguientes:

hora	17 ⁰⁰	17 ⁴⁵	18 ⁴⁵	19 ⁴⁵	20 ⁴⁵	21 ⁴⁵	22 ⁴⁵	23 ²⁰	01 ²⁰	03 ²⁰	05 ²⁰	07 ²⁰
DO ₅₅₀	0.11	0.36	1.00	2.8	3.60	4.2	4.5	4.7	4.9	5.0	5.1	4.9

8.

Calcular el rendimiento de producción de biomasa por gramo de carbono consumido de un cultivo que produce 20 gramos por litro de células cuando utiliza como única fuente de carbono una disolución de glucosa al 10% (peso / volumen)

9.

Considerando que en una célula bacteriana típica, el carbono representa el 50% del peso seco y que la relación entre la biomasa del cultivo y su densidad óptica es de 3.2 mg biomasa por unidad de DO₅₅₀, ¿cuáles serán los rendimientos, medidos en términos de la proporción de carbono usado como nutriente que es transformado en carbono de biomasa, de sendos cultivos de la bacteria anaerobia facultativa *Escherichia coli* que alcanzan en fase estacionaria una densidad óptica (DO₅₅₀) de 5.0 (crecimiento en condiciones aerobias) y de 0.8 (crecimiento en condiciones anaerobias) usando, en ambos casos, como única fuente de carbono glucosa a una concentración del 0.4 % (peso/volumen)?, ¿A qué se deben las diferencias en el rendimiento?.

10.

En la tabla siguiente se indican las energías libres de formación (G^0_f) expresadas en kJ mol⁻¹ para una serie de compuestos de interés biológico. Usando estos valores calcular el cambio de energía que tiene lugar en el proceso de síntesis de glucosa a partir de CO₂ y agua y de combustión del metano.

Compuesto	Energía libre de formación
H ₂ O	-237.17
CO ₂	-394.4
H ₂	0.00
O ₂	0.00
NH ₄ ⁺	-79.37
N ₂ O	+104.18
Acetato	-369.4
Glucosa	-917.22
CH ₄	-50.75
CH ₃ OH	-175.4

11.

El valor D120 para un microorganismo es de 3.0 minutos. Si tenemos una contaminación inicial de 8 x 10¹² células por gramo. ¿Qué valor de contaminación tendrá la muestra después de un tratamiento térmico a 120°C de 18 minutos?

Microbiología General
Problemas y cuestiones

12.

Determinar el valor del tiempo decimal de termodestrucción a 116 °C (D_{116}) de un microorganismo a partir de los siguientes datos de supervivencia al tratamiento

Duración del tratamiento	Número de viables
5	340.0
10	65.0
15	19.0
20	4.5
25	1.3

13.

Cuando el valor de D se calcula a 121.1°C ($D_{121.1}$) se denomina frecuentemente valor D_r . Calcular el valor de F_0 para un tratamiento de una conserva destinado a reducir en un factor de 10^{12} el riesgo de presencia de esporas de *Clostridium botulinum* ($D_r = 0.21$ minutos).

14.

Explicar qué se deduce de los datos de la tabla siguiente en la que se someten diferentes tipos de alimentos a tratamientos térmicos a distintos valores de pH.

pH	Valor de D (min.)		
	Espagueti en salsa de tomate	Macarrones con queso	Paella
4.0	0.128	0.127	0.117
4.2	0.143	0.148	0.124
4.4	0.163	0.170	0.149
4.6	0.223	0.223	0.210
4.8	0.226	0.261	0.256
5.0	0.260	0.306	0.266
6.0	0.491	0.535	0.469
7.0	0.515	0.568	0.550

15.

Para un microorganismo determinado el valor $D_{104.4}$ es 113.0 min. y D_r es 2.3 min. Calcular el valor z .

16.

Calcular el valor de F_0 de un tratamiento térmico para una muestra sabiendo que $D_{90} = 15$ min. y $z = 18$ °C.

17.

En un cultivo de un microorganismo en un fermentador, el número de células por mililitro aumenta 80×10^6 veces en 10 horas de cultivo antes de llegar a la fase estacionaria. ¿Cuál es la tasa de crecimiento del cultivo?. ¿Cuál es el tiempo de generación del cultivo anterior?

Microbiología General

Problemas y cuestiones

Una vez que el cultivo ha llegado a fase estacionaria, tomamos dos muestras de 10^8 células cada una y las sometemos a un tratamiento térmico a 80°C durante 10 y 20 minutos. Al finalizar el tratamiento determinamos el número de supervivientes y obtenemos 4×10^7 y 5×10^7 , respectivamente. ¿Qué significan estos resultados?

A fin de destruir térmicamente el microorganismo anterior determinamos que el valor $D_{100} = 10$ min y el valor $z = 20^\circ\text{C}$. ¿Cuánto tiempo será necesario tratar a 120°C una muestra de 100 ml de cultivo que contiene 10^8 células por mililitro para lograr 12 reducciones decimales de la carga microbiana?

Calcular el peso seco de células y estimar el peso fresco que obtendremos al recoger un fermentador de 5 l que contiene 5 gl^{-1} de sustrato sabiendo que $Y_s = 0.4$.

18.

Calcula el número de microorganismos viables por gramo de tierra teniendo en cuenta que has resuspendido 25 g en 75 ml de agua de peptona, a partir de esta dilución madre has hecho 4 diluciones decimales (1 ml en 9 ml de agua peptona) y al sembrar en placa 100 μl de cada dilución, has obtenido 50 colonias en la última de las diluciones.

19.

Una muestra de 100 ml de leche conteniendo dos poblaciones bacterianas: (A) *Lactobacillus lactis* y (B) *Brucella abortus*, se somete a un proceso de pasteurización alta (72°C , 15 seg), tras el cual sobreviven 105 bacterias de la población A y 10 bacterias de la población B. La muestra de leche se deja a 25°C durante 48 horas. Calcular: (1º) El tiempo de generación de *Lactobacillus lactis* a 25°C si después de las 48 horas tenemos 10^{14} bacterias. (2º) El número de bacterias de la población B (*Brucella abortus*) tras las 48 horas de incubación si el tiempo de generación es de 90 minutos. (3º) El número de bacterias totales en un mililitro de leche tras las 48 horas de incubación

20.

Un cultivo bacteriano tiene 10^9 bacterias de una población A, 10 bacterias de una población B y 10^3 bacterias de una población C. (1º) ¿Cuál será la bacteria más numerosa si se incuba el cultivo durante 48 horas a 37°C y los tiempos de generación son $\tau_A = 3$ horas, $\tau_B = 90$ minutos y $\tau_C = 30$ minutos?. (2º) Calcula el tiempo de generación (τ) de cada una de las poblaciones a 25°C si tras 48 horas de incubación de la población A hay, 10^{15} bacterias, de la población B, 10^{16} bacterias y de la población C, 10^{24} bacterias. (3º) ¿Cómo explicas los resultados del apartado B?.

21.

El tiempo de reducción decimal de una bacteria dada en leche a 65° es de 20 minutos. Cuando calentamos a 90°C una muestra que tiene 10^9 bacterias durante 10 minutos el número de supervivientes es de 10^7 . Calcular: (1º) El valor D_{90} para dicha bacteria. (2) El valor z para esa bacteria. (3º) El número de supervivientes que esperamos después de tratar en el autoclave a media atmósfera (115°C durante 15 minutos) una muestra de un litro de leche contaminada de dicha bacteria que contiene 8×10^{12} bacterias por mililitro

22.

El tiempo de reducción decimal de una bacteria dada a 65° es de 18 minutos. Cuando calentamos a 80°C una muestra que tiene 10^8 bacterias durante 15 minutos el número de supervivientes es de 10^7 . Calcular: (1º) El valor D_{90} para dicha bacteria. (2) El número de supervivientes que esperamos después de tratar en el autoclave a media atmósfera

Microbiología General

Problemas y cuestiones

(115° C durante 15 minutos) una muestra de un litro de leche contaminada de dicha bacteria que contiene 8×10^{12} bacterias por mililitro. (3°) El tiempo mínimo de tratamiento necesario para esterilizar una muestra de 10^{15} bacterias usando un autoclave que trabaja a 120°C.

23.

¿Por qué la temperatura óptima de cultivo de un microorganismo es más próxima a su temperatura máxima de crecimiento que a la mínima?

24.

¿Por qué pueden aislarse microorganismos termófilos en un ambiente frío (suelo o agua fría) mientras que no pueden aislarse microorganismos psicrófilos en un ambiente termófilo (fuentes termales, pilas de compostaje que hayan fermentado, etc.)?

25.

Cuando se prepara una lata de conservas se la somete a un tratamiento térmico para evitar el deterioro de su contenido debido a microorganismos. Este tratamiento elimina las bacterias psicrófilas y mesófilas pero no las termófilas; sin embargo, la conserva se mantiene luego en buenas condiciones sin que se produzca deterioro causado por las termófilas supervivientes. ¿Cómo puede explicarse esto?

25.

La división celular en *Escherichia coli* se produce en el momento en el que se ha completado la replicación del cromosoma bacteriano que, en el caso de *E. coli*, tiene 3.5×10^6 pares de bases. Considerando que la ADN polimerasa es capaz de copiar 3000 nucleótidos por segundo en cada hebra a 37°C, calcular cuál será la densidad óptica de un cultivo de esta bacteria después de tres horas de incubación a 37°C si la densidad óptica del inóculo es de 0.05.

26.

¿Cómo variará la cantidad de proteína producida por un cultivo bacteriano si el número de microorganismos por unidad de volumen evoluciona de una forma exponencial equilibrada?

27.

En dos tratamientos térmicos realizados a un bacteria se comprueba que la incubación durante 20 minutos a 60°C es capaz de reducir el número de bacterias viables de 8×10^7 a 5×10^4 y que la incubación a 80°C durante el mismo tiempo reduce el número de bacterias viables de 9×10^6 a 5×10^2 unidades por mililitro. ¿Cuál es el valor de z para esta bacteria en estas condiciones de cultivo?

28.

Cuando se siembra en una placa con agar selectivo que contiene sales biliares una muestra de bacterias el recuento es de 8×10^4 bacterias por mililitro. Si la siembra de la misma muestra se realiza sobre agar común con un medio inespecífico (LB o caldo de carne) el recuento es de 5×10^6 . ¿Qué conclusiones pueden sacarse de estos datos?

Microbiología General Problemas y cuestiones

29.

¿Cuál es el rendimiento de la utilización del carbono durante el crecimiento de un microorganismo que usa como fuente de carbono glucosa, si cuando se cultiva en presencia de 4 miligramos por mililitro (mg/ml) de este azúcar como fuente de carbono se obtiene un peso seco de 2 mg/ml de bacterias. ¿cómo se explica que el rendimiento sea menor que la unidad?. (Considerar el peso molecular de C 12 y de O16 y que el peso del carbono celular representa el 40% del peso seco de la bacteria).

30.

En un cultivo de *Bacillus thuringiensis* se hace un seguimiento del número de bacterias viables (columna 2) y del número de viables que se detectan después de un tratamiento de 20 minutos a 60°C de las muestras (columna 3) a lo largo del tiempo (columna 1). Los sobrenadantes de los cultivos (medio de cultivo al que se han eliminado las células) se emplean para detectar la presencia en ellos de toxinas capaces de matar larvas de insectos. ¿En qué muestras de las tomadas esperaremos encontrar mayor actividad insecticida?

Tiempo de cultivo (horas)	Viables	Resistentes a 20 min. a 60°C
0	0.10×10^8	0.10×10^4
1	0.15×10^8	0.20×10^4
2	0.20×10^8	0.25×10^4
3	0.50×10^8	0.25×10^4
4	1.00×10^8	0.25×10^4
5	2.00×10^8	0.30×10^4
6	2.50×10^8	1.00×10^5
7	2.60×10^8	1.00×10^7
8	2.55×10^8	2.00×10^8

31.

Calcular la tasa de crecimiento de un cultivo de *Escherichia coli* que pasa de tener $10 \text{ ufc}\cdot\text{ml}^{-1}$ a $2 \times 10^8 \text{ ufc}\cdot\text{ml}^{-1}$ en 12 horas de cultivo a 37 °C con aireación (condiciones óptimas de crecimiento).

El medio de cultivo usado en el apartado anterior tiene como única fuente de carbono glucosa en una concentración del 0,4% (peso/volumen). En estas condiciones produce en cultivo estanco $20 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ de células (peso fresco) al llegar a la fase estacionaria causada por agotamiento de la fuente de carbono. ¿Cuál es el rendimiento de la utilización de glucosa por este microorganismo en estas condiciones?

¿Cuál es la tasa específica de consumo de glucosa por este microorganismo en estas condiciones de cultivo?

Cuando la concentración de glucosa en el medio es de sólo $0,1 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ (0.01 % peso/volumen) la tasa de crecimiento de la bacteria es de $\mu = 0.7 \text{ h}^{-1}$. ¿Cuál será la tasa de crecimiento del cultivo cuando la concentración de glucosa sea de $0.05 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$?

Supongamos que cultivamos la bacteria anterior en un fermentador continuo y que los valores calculados en los apartados precedentes son igualmente válidos para estas nue

Microbiología General

Problemas y cuestiones

vas condiciones. Si el fermentador tiene un volumen de 10 l y opera con un flujo de entrada de medio fresco de $12 \text{ l}\cdot\text{h}^{-1}$. ¿Cuál será la concentración de glucosa en el efluente del fermentador en estas condiciones? (La composición del medio de entrada es la descrita en el apartado b de este problema, aunque este no es un dato relevante para la solución).

32.

El tratamiento térmico de la bacteria A durante 2 minutos a $120 \text{ }^\circ\text{C}$ reduce el número de viables de $10^8 \text{ ufc}\cdot\text{ml}^{-1}$ a $10^4 \text{ ufc}\cdot\text{ml}^{-1}$. Calcular el tiempo de termodestrucción D_{120} .

La bacteria B tiene un valor D_{80} de 1 min y queremos calcular el valor de D_{120} . Para ello tratamos 10 ml de una muestra que contiene $10^9 \text{ ufc}\cdot\text{ml}^{-1}$ durante 1 min $90 \text{ }^\circ\text{C}$ y el número de supervivientes es de $10^7 \text{ ufc}\cdot\text{ml}^{-1}$. Calcular el valor D_{120} para la bacteria B.

Explicar a qué puede deberse la diferencia entre los valores D_{120} de las bacterias A y B.

Supongamos que la carga microbiana inicial de un alimento es de $10^7 \text{ ufc}\cdot\text{ml}^{-1}$ (bacteria A) y $10^{12} \text{ ufc}\cdot\text{ml}^{-1}$ (bacteria B). ¿Qué tiempo de tratamiento a $120 \text{ }^\circ\text{C}$ será necesario aplicar a dicho alimento para que la carga al final del mismo sea menor de $10^{-12} \text{ ufc}\cdot\text{ml}^{-1}$?

33.

El número de U.F.C. por mililitro de un cultivo bacteriano dado es de 19×10^8 , sabiendo que el recuento en la placa en la que se habían sembrado 10 microlitros es de 19, ¿cuál es la dilución que se ha considerado para el cálculo total?.
