

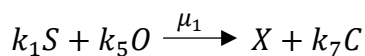
# Mestrado em Bioinformática - Modelação

## Ficha de Trabalho 1

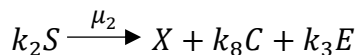
### Exercício 1

Considere o processo de fermentação da *Saccharomyces cerevisiae* a partir de glucose. Em condições aeróbias, a levedura consome glucose e produz biomassa, e em condições anaeróbias também produz etanol, de acordo com as equações seguintes. O microrganismo é cultivado em modo descontínuo e semi-contínuo com uma corrente de alimentação de glucose de 150 g/L.

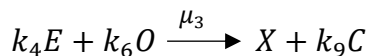
Crescimento oxidativo em glucose (respiração):



Crescimento redutivo em glucose (fermentação):



Crescimento oxidativo em etanol (respiração):



1. Considere a cinética da reacção 1 dada por:

$$\mu_1 = \mu_{\max 1} \frac{S}{K_{S1} + S} = 0.3 \frac{S}{0.2 + S}$$

E para a reacção 2 por:

$$\mu_2 = \mu_{\max 2} \frac{S}{K_{S2} + S} = 0.1 \frac{S}{0.3 + S}$$

E para a reacção 3 por:

$$\mu_3 = \mu_{\max 3} \frac{E}{K_{S3} + E} = 0.4 \frac{E}{0.2 + E}$$

Para o modelo acima:

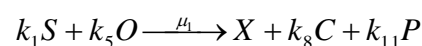
- Deduza o modelo dinâmico do processo em modo batch para S, X, E e V.
- Deduza o modelo dinâmico do processo em modo fed-batch para S, X, E e V.

## Exercício 2

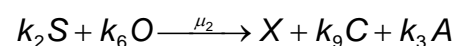
Considere o processo de produção de proteínas recombinadas com o microrganismo *Escherichia coli* (estirpe BL21).

Em condições aeróbias a bactéria consome glucose (S) e produz biomassa (X), proteína recombinada (P) e acetato (A), de acordo com as seguintes equações:

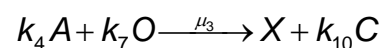
Crescimento oxidativo em glucose com produção:



Crescimento fermentativo em glucose:



Crescimento oxidativo em acetato:



- Deduza a partir das equações o modelo dinâmico do processo para X, S, A, P e V em modo descontínuo (*batch*).
- Implemente o modelo obtido na alinha a) em Python usando a rotina ode para a integração. Obtenha a variação de X, S, A, P e Volume (V) ao longo do tempo para 7 horas de fermentação. Considere valores iniciais de 7 g/L, 12 g/L, 0 g/L, 0 g/L e 9 L para X, S, A, P e V, respetivamente.
- Deduza o modelo dinâmico do processo para X, S, A, P e V em modo semi-contínuo (*fed-batch*), considerando que há adição de um caudal de entrada  $F_e$  de uma solução de glucose à concentração  $S_e$ .
- Implemente o modelo obtido para modo semi-contínuo em Python usando a mesma rotina ode para a integração. Obtenha a variação de X, S, A, P e Volume (V) ao longo do tempo para 20 horas de fermentação com um perfil de alimentação constante de 0.7 L/h. Considere valores iniciais de 4 g/L, 0 g/L, 0 g/L, 0 g/L e 8 L para X, S, A, P e V, respetivamente. Considere uma concentração de 350 g/L na solução de alimentação.
- Imagine agora que está a utilizar no laboratório uma nova estirpe de *E. coli* (estirpe JM109) que tem um comportamento ligeiramente diferente da inicial (BL21). Essa nova estirpe foi cultivada em modo *fed-batch* com um perfil de alimentação constante de 0.7 L/h e mediram-se os dados experimentais disponíveis no *e-learning*.

Compare graficamente os dados experimentais da nova estirpe com os previstos com o seu modelo (construído para a estirpe BL21).

Formule o problema de estimação dos parâmetros  $k_4$ ,  $\mu_2$  e  $K_{s3}$  para essa nova estirpe a partir dos dados experimentais de X e S fornecidos. Implemente o cálculo da Função Objetivo e resolva o problema com *Simulated Annealing*.

- f) Obtenha as sensibilidades ao longo do tempo das variáveis X e S aos parâmetros  $k_4$ ,  $\mu_2$  e  $K_{s3}$ .
- g) Baseado nos dados da análise de sensibilidade, efetue uma redução do modelo
- h) Derive o sistema em quimiostato, considerando o caudal de entrada  $F_e$  igual ao usado no modo semi-contínuo e assumindo, neste caso, que o volume é fixo e igual 6L. Determine o estado estacionário e a estabilidade do sistema no estado estacionário para as situações em que não há biomassa e em que o valor da biomassa é maior que 0.

### **Tips**

- Considera o package scipy para a integração da rotina ode, nomeadamente o método `scipy.integrate.ode` com o integrante LSODA e o método BDF
- Considera o package matplotlib.pyplot para realizar os gráficos
- Considera o package scipy para resolver o problema com *Simulated Annealing*, nomeadamente o método `scipy.optimize.basinhopping`
- Considera o package sympy para operações algébricas, nomeadamente o método `symbols` para criar variáveis algébricas, o método `diff` para obter derivadas de expressões matemáticas e o método `lambdify` para transformar expressões matemáticas em funções com argumentos.
- Considera a função `scipy.optimize.fsolve` para obter os estados estacionários, o package `numdifftools` para calcular o jacobiano e as funções do numpy para obter o traço e o determinante.

Considere cinética de Monod para as 3 reações com (estirpe BL21):

	$\mu_{\max} \text{ (h}^{-1}\text{)}$	$K_s \text{ (g/L)}$
Reação 1	0.25	0.3
Reação 2	0.55	0.3
Reação 3	0.25	0.4

Parâmetros ks para a estirpe BL21

Parâmetro	Valor ( $g_{var}/g_x$ )
$k_1$	4.412
$k_2$	22.22
$k_3$	8.61
$k_4$	9.846
$k_5$	3.253
$k_6$	12.29
$k_7$	4.085
$k_8$	3.345
$k_9$	21.04
$k_{10}$	7.65
$k_{11}$	13.21