

**Laboratori integrat VI**

Codi: 100975

Crèdits: 3

Titulació	Tipus	Curs	Semestre
2500502 Microbiologia	OB	3	2

**Professor/a de contacte**

Nom: Neus Ferrer Miralles Ferrer Miralles

Correu electrònic: Neus.Ferrer@uab.cat

**Utilització d'idiomes a l'assignatura**

Llengua vehicular majoritària: català (cat)

Grup íntegre en anglès: No

Grup íntegre en català: No

Grup íntegre en espanyol: No

**Altres indicacions sobre les llengües**

La meitat de les classes es donen en castellà

**Equip docent**

Jordi Mas Castella

Pol Huedo Moreno

Daniel Yero Corona

Nuria Vignes Frantzen

**Prerequisits**

S'aconsella als estudiants revisar els continguts científico-teòrics sobre els quals es basa aquesta assignatura.

Així mateix és convenient que aquesta assignatura es cursi simultàniament o amb posterioritat a la resta d'assignatures programades pel segon semestre del tercer curs del Grau de Microbiologia.

Per poder cursar aquesta assignatura cal que l'estudiant hagi superat la prova de Seguretat i de Bioseguretat que trobarà en el corresponent espai docent del Campus Virtual. La informació que cal consultar per superar aquestes proves es troba a l'espai de comunicació del Grau de Microbiologia. A més a més, és imprescindible que l'estudiant segueixi la normativa de treball que indiqui el professorat i que accepti i segueixi les normes de funcionament dels laboratoris docents de la Facultat de Biociències.

Per raons de seguretat, si no s'han superat els dos tests de seguretat i d bioseguretat, o bé no es porta bata i ulleres de seguretat no es permetrà l'accés al laboratori.

**Objectius**

Es tracta d'una assignatura obligatòria de tercer curs, nuclear del Grau de Microbiologia, que introdueix als estudiants en l'ús d'un conjunt de tècniques bàsiques de Microbiologia per a l'experimentació en un laboratori de Microbiologia Industrial i Microbiologia Ambiental. Els coneixements assolits en aquesta assignatura permetran a l'estudiant adquirir les competències d'altres d'assignatures pràctiques o teòriques que conformen

el Grau de Microbiologia i que estan programades per a ser cursades simultàniament o amb posterioritat a aquesta.

Els objectius concrets a assolir es defineixen en els següents punts i permetran a l'alumne:

- 1.-Aïllar i seleccionar microorganismes d'interès industrial.
- 2.-Manipular un microorganisme per convertir-lo en productor d'una activitat industrial d'interès utilitzant mètodes moleculars.
- 3.-Desenvolupar un procés d'obtenció d'un producte d'interès industrial.
- 4.-Determinar la qualitat microbiològica de l'aire i de les superfícies d'instal·lacions industrials.
- 5.-Determinar la qualitat microbiològica de l'aigua.
- 6.-Descriure l'efecte desinfectant de productes químics.
- 7.-Convertir residus industrials en productes d'alt contingut proteic.
- 8.-Seleccionar i avaluar l'activitat de microorganismes implicats en la bioremediació de sòls.
- 9.-Demostrar l'acció de bacteris sobre la inhibició del creixement de fongs fitopatògens.

## Competències

- Adaptar-se a noves situacions.
- Aplicar eines basades en microorganismes per a valorar l'impacte ambiental de l'activitat humana, i també per a recuperar ambients contaminats.
- Aplicar els coneixements teòrics a la pràctica.
- Aplicar els principis sobre l'avaluació i la prevenció de riscos al laboratori i les regulacions sobre bioseguretat relatives als microorganismes i a la manipulació de diferents sistemes biològics.
- Avaluar la qualitat i/o seguretat microbiològica dels aliments, aigües, fàrmacs, cosmètics i altres productes naturals o elaborats.
- Caracteritzar els agents causals de malalties microbianes en l'home, en els animals i les plantes per diagnosticar-les i controlar-les, fer estudis epidemiològics i conèixer la problemàtica actual i les estratègies de lluita contra aquestes malalties.
- Conèixer i aplicar les normes de seguretat i qualitat en microbiologia.
- Desenvolupar el raonament crític en l'àmbit d'estudi i en relació amb l'entorn social.
- Dissenyar i controlar processos d'origen microbià i participar en els processos productius en què hi intervenen microorganismes.
- Dissenyar i utilitzar tractaments de desinfecció i esterilització, i també mètodes de control per a avaluar-ne l'eficàcia.
- Ser sensible a temes mediambientals, sanitaris i socials.
- Tenir capacitat d'anàlisi i de síntesi, d'organització i planificació i de presa de decisions.

## Resultats d'aprenentatge

1. Adaptar-se a noves situacions.
2. Analitzar i seguir les dinàmiques poblacionals de microorganismes en processos aplicats.
3. Aplicar al laboratori els principis de l'avaluació i la prevenció de riscos.
4. Aplicar al laboratori les normatives de bioseguretat.
5. Aplicar els coneixements teòrics a la pràctica.
6. Aplicar mètodes per valorar el potencial de desinfecció de productes químics.
7. Aplicar tractaments de desinfecció i valorar-ne l'eficiència.
8. Avaluar l'efecte dels desinfectants sobre els microorganismes i les superfícies de treball.
9. Aïllar i caracteritzar agents potencials de control biològic basats en microorganismes per al control de plagues i malalties.

10. Aïllar i cultivar microorganismes d'interès biotecnològic.
11. Calcular el rendiment de microorganismes que fem créixer en diferents substrats.
12. Conèixer i aplicar les normes de seguretat i qualitat en microbiologia.
13. Desenvolupar el raonament crític en l'àmbit d'estudi i en relació amb l'entorn social.
14. Determinar els nivells de contaminació microbiana atmosfèrica.
15. Determinar experimentalment els paràmetres que defineixen els tractaments d'esterilització.
16. Determinar experimentalment i interpretar els paràmetres cinètics que defineixen el creixement microbià.
17. Dissenyar estratègies de bioremediació i biorecuperació a partir de sistemes model desenvolupats al laboratori.
18. Establir les condicions òptimes de producció de productes d'origen microbià.
19. Seleccionar comunitats microbianes per al tractament de contaminants.
20. Ser sensible a temes mediambientals, sanitaris i socials.
21. Tenir capacitat d'anàlisi i de síntesi, d'organització i planificació i de presa de decisions.
22. Utilitzar bioindicadors per avaluar l'impacte ambiental.
23. Utilitzar bioreactors d'operació contínua i discontinua.
24. Utilitzar els microorganismes per valorar el grau de contaminació del medi i per recuperar-lo.
25. Utilitzar instruments adequats per fer el seguiment i el control de processos basats en microorganismes.
26. Valorar l'activitat biològica de productes microbians.
27. Valorar la càrrega microbiana de superfícies.

## Continguts

L'assignatura es divideix en els següents mòduls:

Mòdul 1: Microbiologia Industrial

Mòdul 2: Microbiologia ambiental

Cada mòdul té una durada aproximada de 24 hores.

Mòdul 1: Microbiologia Industrial

Continguts: Aquest mòdul consta de 7 sessions i se centra en l'aïllament i l'ús de microorganismes per a obtenir un producte d'interès industrial. Les pràctiques realitzades en aquest mòdul es realitzaran obligatòriament sota la normativa de treball que s'indicarà al seu inici.

- 1.- Aïllament i selecció de microorganismes d'interès industrial-MI1
- 2.- Cribratge per activitat-MI2
- 3.- Aïllament de gens d'interès industrial-MI3
- 4.- Clonació en vectors de sobreexpressió-MI4
- 5.- Desenvolupament del mètode de producció-MI5
- 6.- Valoració-MI6

Mòdul 2: Microbiologia Ambiental

Continguts: Aquest mòdul consta de 8 sessions centrades en la determinació de la contaminació microbiana ambiental, la utilització dels microorganismes en bioremediació i valorització de residus, així com en el control de plagues i malalties vegetals.

- 1.- Gestió de residus
- Bioremediació d'un sòl contaminat-MA1

- Producció de proteïna unicel·lular a partir d'un residu-MA2

2.- Control de la contaminació ambiental

- Qualitat de l'aire i de les superfícies d'instal·lacions industrials-MA3

- Qualitat microbiològica de l'aigua-MA4

- Desinfecció de superfícies-MA5

3.- Control biològic

- Aïllament de bacteris de la fil·losfera.

Determinació del seu potencial com a enemics naturals de patògens vegetals-MA6

Els continguts per sessió que s'impartiran en cadascun dels mòduls són els següents:

Mòdul 1: Microbiologia Industrial

MI1

Sessió 1

-Enriquiment i aïllament d'*Actinomicets* de mostres de sòl

Sessió 2

-Enriquiment i aïllament de *Bacillus* de mostres de sòl

-Identificació, recompte i aïllament de clons d'*Actinomicets*

Sessió 3

-Identificació, recompte i aïllament de clons de *Bacillus*

MI2

Sessió 3

-Detecció de l'activitat antibiòtica d'*Actinomicets*-sembra

-Detecció de l'activitat enzimàtica d'*Actinomicets*-sembra

Sessió 4

-Detecció de l'activitat antibiòtica de *Bacillus*-sembra

-Detecció de l'activitat enzimàtica de *Bacillus*-sembra

Sessió 5

-Avaluació de l'activitat enzimàtica d'*Actinomicets*

-Detecció de l'activitat antibiòtica d'*Actinomicets*-sembra en doble capa

Sessió 6

-Detecció de l'activitat antibiòtica de *Bacillus*-sembra en doble capa

Sessió 7

- Avaluació de l'activitat antibiòtica de *Bacillus*
- Avaluació de l'activitat enzimàtica de *Bacillus*
- Avaluació de l'activitat antibiòtica d'*Actinomicets*
- Avaluació i discussió de resultats

MI3

Sessió 1

- Purificació de DNA genòmic de *Bacillus*
- PCR per amplificació de gen d'interès industrial

Sessió 2

- Gel comprovació fragment de DNA del gen d'interès industrial

MI4

Sessió 2

- Digestió de vector d'expressió *E. coli*
- Digestió de fragment de DNA del gen d'interès industrial
- Defosforil·lació i purificació vector d'expressió *E. coli* digerit

Sessió 3

- Lligació gen d'interès industrial
- Transformació de la lligació

Sessió 4

- Detecció de soques productores

MI5

Sessió 5

- Inoculació de microorganismes productors d'activitats enzimàtiques d'interès industrial

Sessió 6

- Experiment en batch: reinoculació del cultiu i seguiment del creixement de microorganismes productors d'activitats enzimàtiques d'interès industrial

MI6

Sessió 6

- Avaluació de la producció i activitat d'enzims d'interès industrial produïts per microorganismes

Sessió 7

- Avaluació i discussió de resultats

Mòdul 2: Microbiologia Ambiental

## MA1

### Sessió 4

- Enriquiment i aïllament de bacteris degradadors d'hidrocarburs de mostres de sòl contaminades
- Determinació de l'activitat microbiana de mostres de sòl contaminades

### Sessió 8

- Lectura heteròtrofs totals
- Detecció de microorganismes degradadors d'hidrocarburs totals
- Detecció i recompte de microorganismes degradadors d'hidrocarburs aromàtics policíclics
- Detecció de microorganismes degradadors de n-hexadecà

### Sessió 9

- Recompte de microorganismes degradadors d'hidrocarburs totals
- Recompte de microorganismes degradadors de n-hexadecà
- Avaluació i discussió de resultats

## MA2

### Sessió 1

- Inoculació de bioreactors amb microorganismes en medis amb diferent concentració de sucres
- Presa de mostres inicials del cultiu: sembra viables, sucres, DO
- Anàlisi de mostres: sembra de viables i mesura DO

### Sessió 2

- Presa de mostres del cultiu: sembra viables, sucres, DO
- Anàlisi de mostres: viables, taxa de creixement del cultiu, temps de duplicació, DO, determinació consum de sucres

### Sessió 3

- Presa de mostres final
- Anàlisi de mostres:
- recomptes i gràfics
- determinació consum de sucres
- determinació de la biomassa del cultiu
- càlculs
- Avaluació i discussió dels resultats

## MA3

### Sessió 5

-Detecció de microorganismes en mostres d'aire

-Detecció de microorganismes en mostres de superfícies

Sessió 7

-Observació i recompte de microorganismes de mostres d'aire i superfícies

-Avaluació i discussió de resultats

MA4

Sessió 5

-Sembra de microorganismes viables de mostres d'aigua

-Detecció i recompte de bacteris coliforms i *Escherichia coli*

-Detecció i recompte d'enterococs intestinals

-Detecció i recompte de *Clostridium perfringens*

Sessió 6

-Avaluació i test de confirmació de la presència de *Escherichia coli*

-Avaluació i test de confirmació de la presència de *Clostridium perfringens*

Sessió 7

-Avaluació de la presència d'*Escherichia coli* en mostres d'aigua

-Avaluació i test de confirmació de la presència d'enterococs fecals

Sessió 8

-Recompte de microorganismes viables de mostres d'aigua

-Avaluació i discussió de resultats

MA5

Sessió 6

-Detecció de microorganismes en mostres de superfícies desinfectades

Sessió 8

-Observació i recompte de microorganismes de superfícies desinfectades

-Avaluació i discussió de resultats

MA6

Sessió 5

-Aïllament de bacteris epífits de fulles de diferents espècies vegetals

Sessió 6

-Obtenció de cultius axènics de bacteris epífits de fulle

Sessió 7

-Realització del test de control biològic de fongs per bacteris epífits de fulla

-Avaluació dels resultats obtinguts del potencial antagonista dels bacteris epífits de fulles sobre un fong fitopatogen

-Avaluació i discussió de resultats

## Metodologia

Aquesta assignatura s'impartirà en tres grups reduïts d'estudiants (màxim 24 estudiants per sessió). Per tal de poder adquirir les competències de l'assignatura l'assistència a les classes és obligatòria. Si un estudiant, per causa justificada i imprevisible (com ara un problema de salut, defunció d'un familiar de fins a segon grau, accident, gaudir de la condició d'esportista d'elit i tenir una competició o activitat esportiva d'obligada assistència, etc) no ha pogut assistir a una/unes sessió/sessions de pràctiques, haurà d'anar a parlar amb el professor responsable i presentar-li el justificant corresponent durant les 48 h posteriors a la sessió a la que ha faltat (certificat mèdic oficial en el que es faci constar explícitament la incapacitat d'assistència a la/les sessió/sessions de pràctiques, atestat policial, justificació de l'organisme esportiu competent, etc.). En cas de Vaga, si un estudiant decideix exercir el seu dret de vaga ho haurà de comunicar al responsable de l'assignatura en un període màxim de 48 h després del dia de la vaga. En cap cas l'absència podrà ser superior al 20 % de les activitats programades. El màxim d'absència en cada un dels mòduls es fixa en un màxim del 10 % per poder ser avaluat. En cas que se superi aquest valor, l'assignatura serà qualificada amb un No Avaluable.

Els estudiants disposaran d'un Manual de l'assignatura abans de l'inici de les sessions pràctiques. A cada sessió de pràctiques és obligatori que l'estudiant porti la seva pròpia bata, ulleres de laboratori, retolador permanent, calculadora i el Manual de l'assignatura que trobarà disponible en el Campus Virtual, assignatura Moodle o bé on li indiqui el professorat. També cal portar una llibreta tipus Miquelrius, Abacus o Oxford amb els fulls cosits, on cada estudiant anotarà les observacions realitzades. Per a la realització de les pràctiques els estudiants treballaran en parelles i sota la supervisió del professor. A l'inici i/o durant cada sessió el professor farà breus explicacions teòriques del contingut de les pràctiques i de les experiències a realitzar per part dels alumnes, així com de les mesures de seguretat específiques i del tractament dels diferents residus químics i biològics generats.

Per a aconseguir un bon rendiment i adquirir les competències corresponents a aquesta assignatura és imprescindible que l'estudiant faci una lectura comprensiva del Manual de l'assignatura, familiaritzant-se amb les pràctiques que durà a terme a cada sessió, així com amb la metodologia que haurà d'aplicar en cada cas.

## Activitats formatives

Títol	Hores	ECTS	Resultats d'aprenentatge
Tipus: Dirigides			
Classes pràctiques de laboratori	48	1,92	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27
Tipus: Supervisades			
Tutoria	1	0,04	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27
Tipus: Autònomes			
Estudi	12	0,48	2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 22, 23, 24, 25, 26, 27



Lectura comprensiva del manual de l'assignatura	5	0,2	2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 22, 23, 24, 25, 26, 27
Redacció de la llibreta de laboratori	6	0,24	21
preparació presentacions orals	3	0,12	13, 21

## Avaluació

L'avaluació de l'assignatura es farà per mòdul i serà continuada. El pes de l'avaluació sobre la qualificació final de l'assignatura de cada mòdul és: Mòdul 1 un 50 %, Mòdul 2 un 50 %. Caldrà obtenir una nota igual o superior a 5 en cadascun dels mòduls pràctics per separat per poder superar l'assignatura.

L'avaluació de cada mòdul es realitzarà de la següent manera:

Mòdul 1: Microbiologia Industrial

### Avaluació continuada del treball en grup

Exposició oral discussió de resultats de les pràctiques i participació en les pràctiques (20 %)

### Avaluació individual dels continguts

Seguiment diari de la llibreta i de treball de laboratori (10 %)

Qüestionari individual amb preguntes tipus test\* (20 %)

\*El qüestionari individual pot ser durant qualsevol moment de les sessions de pràctiques i pot haver més d'un qüestionari

Mòdul 2: Microbiologia Ambiental

### Avaluació continuada del treball en grup

Lliurament d'un informe final Bioreactors (3,3 %)

Exposició oral discussió de resultats de les pràctiques i participació en les pràctiques (6,7 %)

### Avaluació individual dels continguts

Seguiment diari de la llibreta de laboratori (10 %)

Qüestionari individual amb preguntes tipus test (30 %)

En cada mòdul s'avaluarà l'actitud de l'alumne al laboratori, la puntualitat, la utilització d'equipament de laboratori (bata i ulleres de protecció), el compliment de les normatives de seguretat i bioseguretat i la comprensió i el seguiment del Manual de l'assignatura. Aquesta avaluació no comporta un augment de la nota, però pot significar la reducció de fins a un 20 % de la qualificació final obtinguda en cada mòdul.

Atès que l'assistència a les activitats programades en aquesta assignatura és obligatòria, l'absència a alguna de les sessions ha de ser justificada i no podrà ser superior al 20 %. En qualsevol cas, aquest 20 % no es podrà acumular en un únic mòdul, essent el màxim per cada un d'ells del 10 % d'absència. En cas que se superi aquest valor, l'assignatura serà qualificada amb un No Avaluable.

Els estudiants que no superin les avaluacions dels diferents mòduls de l'assignatura els podran recuperar en la data programada al final del semestre (prova de recuperació), realitzant un qüestionari associat al mòdul no superat amb anterioritat. En aquesta prova es podrà recuperar per separat l'avaluació de l'examen tipus test de cada mòdul (20 i 30 % respectivament). Les altres activitats no tenen recuperació.

Els alumnes que no obtinguin la qualificació mínima requerida per a superar cada un dels mòduls del laboratori integrat, no podran aprovar l'assignatura. En aquest cas, la qualificació final màxima de l'assignatura serà un 4.

Com que aquesta assignatura està diferenciada en mòduls, a partir de la segona matrícula, els alumnes repetidors tan sols s'hauran d'avaluar del mòduls concrets que no han estat superats.

## Activitats d'avaluació

Títol	Pes	Hores	ECTS	Resultats d'aprenentatge
Avaluació Mòdul 1 Microbiologia Industrial: examen tipus test	20 %	0	0	6, 7, 8, 9, 11, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 22, 23, 24, 26, 27
Avaluació Mòdul 1 Microbiologia Industrial: presentació oral i participació	20 %	0	0	13, 21
Avaluació Mòdul 2 Microbiologia Ambiental: entrega informe	3,3 %	0	0	2, 5, 11, 16, 17, 18, 20, 23, 25
Avaluació Mòdul 2 Microbiologia Ambiental: examen tipus test	30 %	0	0	1, 2, 3, 4, 5, 10, 12, 13, 18, 21, 25
Avaluació Mòdul 2 Microbiologia Ambiental: presentació oral i participació	6,7 %	0	0	13, 21
Entrega llibreta de laboratori	20 %	0	0	2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27

## Bibliografia

La bibliografia i els enllaços web s'indiquen en els protocols de pràctiques.

La programació de l'assignatura es pot consultar a l'espai docent de la Coordinació del Grau de Microbiologia.

### Microbiologia Industrial

-R.S. Burlage, R. Atlas, D. Stahl, G. Geesey and G. Sayler, (1998). *Techniques in Microbial Ecology*. New York, NY. Oxford University Press.

-L.M. Prescott (2002). *Microbiology*. Chapter 42: Industrial Microbiology and biotechnology, Fifth edition, New York, NY. The McGraw–Hill Companies.

-M. Rabbani, H.M. Sadeghi, F. Moazen, M. Rahimi and G. Salehi. (2011). Cloning and Expression of Randomly Mutated *Bacillus subtilis*  $\alpha$ -Amylase Genes in HB101. *Biotechnology Research International* doi:10.4061/2011/305956.

-R.C. Cadwell and G.F. Joyce. (1994). Mutagenic PCR. *Genome Res.* 3: S136-S140.

-M.J. Waites, N.L. Morgan, J.S. Rockey and G. Higton (2001) *Industrial Microbiology: an introduction*. London, UK. Blackwell Science Ltd.

-Protocol activitat alfa amilasa: <http://www.worthington-biochem.com/aa/assay.html>

-Preparació tampó fosfats: [http://openwetware.org/wiki/Phosphate\\_buffer](http://openwetware.org/wiki/Phosphate_buffer)

### Microbiologia Ambiental

### 1.-Gestió de residus

-Martin Alexander (1999) Biodegradation and Bioremediation. 2nd Edition. Cornell University, Ithaca, New York, U.S.A. AcademicPress.

-Ajay Singh, Ramesh C. Kuhad, Owen P. Ward. (2009) Advances in applied bioremediation. Berlin, Heidelberg. Springer-Verlag.

-www.pomif.com

### 2.-Control de la contaminació ambiental

-Wen-TsoLiu, Janet K. Caister (2010) Microbiology. Norfolk, UK. Academic Press.

-Harley-PreScott. (2002) Laboratory exercises in microbiology (fifth edition). Boston, Mass. The McGraw-Hill companies.

### 3.-Control biològic

- H.J. Benson, (2001) Microbiological applications. Laboratory manual in general microbiology (Eighth edition). Boston, Mass. The McGraw-Hill companies.

- B. Prapagdee, C. Kuekulvong and S. Mongkolsuk (2008). Antifungal Potential of Extracellular Metabolites Produced by *Streptomyces hygroscopicus* against Phytopathogenic Fungi. International Journal of Biological Sciences 4:330-337.

-Martín A., Béjar V., Gutierrez J.C., Llagostera M. y Quesada E. 2019. Microbiología Esencial. 1ª edición. Editorial Médica Panamericana.

### Microbiología general

-Martín A., Béjar V., Gutierrez J.C., Llagostera M. y Quesada E. 2019. Microbiología Esencial. 1ª edición. Editorial Médica Panamericana.