

### ANÁLISIS DE LA TENSION DE OXIGENO DISUELTO EN CULTIVOS DE *Azotobacter vinelandii* EN MATRACES AGITADOS DURANTE LA PRODUCCION DE ALGINATO

Alfonso Ramírez, J. Esteban Lozano, Enrique Galindo y Carlos Peña,  
Departamento de Ingeniería Celular y Biocatálisis, Instituto de Biotecnología, UNAM, Apdo.Post. 510-3, Cuernavaca, 62210, Morelos, MEXICO Fax: (777) 317 23 88, e-mail: carlosf@ibt.unam.mx

Palabras clave: *alginato, matraces agitados, oxígeno disuelto.*

**Introducción.** A pesar de que los matraces son los biorreactores de uso más común en el trabajo biotecnológico, es muy poco lo que se sabe sobre la evolución de parámetros operacionales como la tensión de oxígeno disuelto (TOD) [1]. Lo anterior es de particular relevancia para el caso de la producción de alginato por fermentación bacteriana, debido a que el oxígeno disuelto determina la concentración y calidad del polímero [2].

El objetivo del presente trabajo fue caracterizar en línea la tensión de oxígeno disuelto en cultivos de *A. vinelandii* productores de alginato bajo diferentes condiciones de transferencia de oxígeno, usando una técnica fluorométrica.

**Metodología.** Se desarrollaron cultivos de *A. vinelandii*, cepa ATCC9046, en matraces agitados de 500 mL con 100 y 25 mL de volumen de llenado. Para todos los casos se uso medio Burk modificado, una agitación de 200 rpm y 29°C durante 72 h. El oxígeno disuelto se monitoreó usando el equipo Fluorometrix®, el cual se basa en la reacción del oxígeno con un fluoróforo inmovilizado en un polímero que se fija a la base del matraz. La reacción se sigue mediante un sensor óptico donde se monta el matraz [3]. En todos los casos se monitoreó el crecimiento celular, la concentración de alginato, el consumo de azúcar y el peso molecular (PM) del alginato de acuerdo a las técnicas previamente descritas [2].

**Resultados y discusión.** El sistema Fluorometrix®, demostró ser un método confiable para la determinación de oxígeno en matraces agitados. En la Fig, 1 se observan las diferencias en los perfiles de TOD para ambas condiciones evaluadas. A pesar de que el oxígeno disuelto rápidamente disminuye a cero en las dos condiciones de transferencia, los tiempos en que se mantiene en este valor es diferente: 15 h para el caso de los matraces con 25 mL de volumen de llenado y 45 h para el caso de los matraces con 100 mL. En ambos casos se puede afirmar que los cultivos están limitados por oxígeno por diferentes periodos. No obstante las diferencias en la evolución de la TOD, el crecimiento celular y la producción de alginato fue muy parecida (Tabla 1). En contraste, el peso molecular del alginato fue mayor (1900 kDa) en los matraces con mayor volumen de llenado.

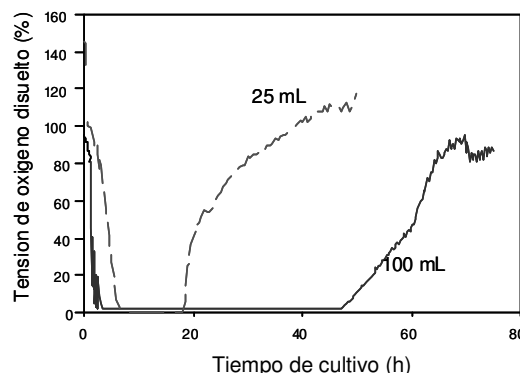


Fig. 1. Perfil de oxígeno disuelto en cultivos de *A. vinelandii* en matraces agitados de 500 mL con 25 y 100 mL de volumen de llenado.

Tabla 1. Velocidad de crecimiento, producción de alginato y  $PMP_{max}$  del polímero bajo diferentes condiciones de transferencia de oxígeno

	Volumen de llenado	
	25 mL	100 mL
$\mu$ ( $h^{-1}$ )	$0.16 \pm 0.02$	$0.15 \pm 0.01$
Alginato máximo (g/L)	$4.5 \pm 0.2$	$4.0 \pm 0.3$
PMP (kDa)	450 kDa	1900 kDa

**Conclusiones.** Por primera vez se reporta el análisis de la TOD en línea en cultivos de *A. vinelandii* en matraces agitados y su relación con la síntesis y peso molecular del alginato.

**Agradecimiento.** Se agradece el apoyo del Conacyt (grant 52210) para la realización de este trabajo.

#### Bibliografía

- Büchs, J. (2001). Introduction to advantages and problems of shaken cultures. *Biochem Eng J.* 7 (2): 91-98.
- Peña, C., M.A. Trujillo-Roldán., Galindo, E. (2000). Influence of dissolved oxygen tension and agitation speed on alginate production and its molecular weight in cultures of *Azotobacter vinelandii*. *Enzyme Microb Technol.* 27 (6): 390-398.
- Gupta, A., Rao, G. (2003). A study of oxygen transfer in shake flasks using a non-invasive oxygen sensor. *Biotechnol Bioeng.* 84 (3): 351-8.