

CARACTERIZACIÓN DE SISTEMAS EN FASES ACUOSAS PARA SU POTENCIAL APLICACIÓN EN FERMENTACIONES DE ALTA DENSIDAD CELUAR

Ana Chávez Santoscoy¹, Jorge Benavides¹, Marco Rito Palomares^{1*}

¹ Departamento de Biotecnología e Ingeniería de Alimentos, Tecnológico de Monterrey. Campus Monterrey, Ave. Eugenio Garza Sada 2501 Sur, Monterrey, NL 64849, México.

* Correspondencia: Marco Rito-Palomares: +52 81 8328-4132; Fax +52 81 8328-4136, mrito@itesm.mx.

Palabras clave: *Sistemas en Dos Fases Acuosa, fermentación alta densidad celular*

Introducción. El uso de Sistemas de Dos Fases Acuosa (SDFA) para la recuperación y purificación primaria de biomoléculas y compuestos de alto valor ha adquirido relevancia en los últimos años, particularmente porque permiten la integración e intensificación de procesos (1). En este contexto resulta importante evaluar la capacidad de dichos sistemas para procesar efluentes concentrados en biomasa o restos celulares.

El objetivo de la presente investigación es caracterizar el comportamiento de partición de biomasa y restos celulares de *Saccharomyces cerevisiae* en SDFA polímero-sal. Adicionalmente determinar la capacidad de carga límite en base a la formación del sistema y la cinética de separación de fases bajo condiciones de reto.

Metodología. Los SDFA polímero-sal se prepararon con polietilenglicol (PEG) y fosfato de potasio usando una base másica fija. La influencia de parámetros como el peso molecular de PEG (400-8000 g/mol), la longitud de línea de corte (LLC; 25 y 45% p/p) y la carga de biomasa o restos celulares (5-50% p/p) de *S. cerevisiae* fue estudiada. Los restos celulares empleados fueron obtenidos mediante sonicación. Se determinó el coeficiente de partición de biomasa o restos celulares en cada uno de los sistemas (K_p , definido como la relación g en fase superior / g en fase inferior). Todos los sistemas estudiados fueron construidos a pH 7 y relación de volumen (V_R) 1. La cinética de separación de fases fue determinada cargando a los diferentes sistemas 50% p/p de una solución 200 g/l de biomasa o restos celulares (concentración reto, superior a aquella reportada para fermentaciones con alta densidad celular (2)) de *S. cerevisiae*. La relación de volúmenes relativa V_{RR} con respecto al tiempo fue determinada.

Resultados y discusión. La biomasa y restos celulares de *S. cerevisiae* presentó coeficientes de partición muy pequeños ($K_p \leq 0.05$) concentrándose en la fase inferior, generando esto una reducción en el valor de V_R a medida que aumentaba la carga al sistema, independientemente del peso molecular de PEG y la LLC utilizada. Sin embargo, en el caso de los sistemas con alto peso molecular de PEG (3350 y 8000 g/mol) no hubo formación de fases al utilizar una carga de 50% p/p, lo cual comprueba que a pesar de ser capaces de manejar grandes concentraciones de biomasa y restos celulares los SDFA tienen un límite de carga inferior a 50% p/p.

Respecto a la cinética de separación de fases se observó que los sistemas cargados con restos celulares presentaron tiempos más cortos de separación que aquellos cargados con biomasa (Figura 1). En general no se observaron cambios significativos con respecto a la variación de LLC en los sistemas.

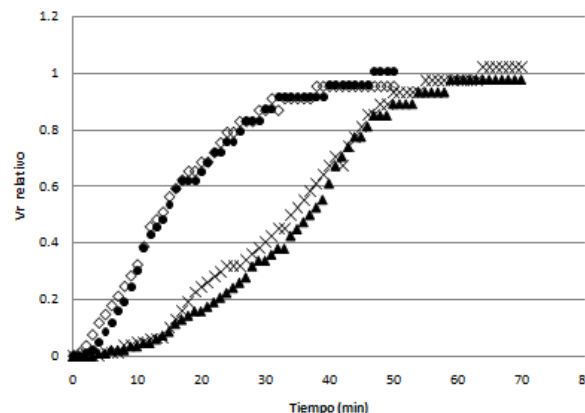


Figura 1. Cinética de separación de *Saccharomyces cerevisiae* en SDFA PEG 400 – Fosfato Vr 1 pH 7. (♦) LLC 25% p/p cargada con restos celulares, (●) LLC 45% p/p cargada con restos celulares, (▲) LLC 25% p/p cargada con biomasa, (X) LLC 45% p/p cargada con biomasa.

Conclusiones. Se logró caracterizar el comportamiento de partición de biomasa y restos celulares de *S. cerevisiae* en SDFA bajo diferentes parámetros de sistema. El límite de carga de biomasa y restos celulares estimado (< 50% p/p) sobrepasa por mucho las concentraciones actualmente encontradas en la industria. Adicionalmente, la cinética de separación de fases demuestra que se requieren tiempos cortos (< 60 min) para lograr el equilibrio del sistema. Los resultados obtenidos validan el uso potencial de SDFA para la integración e intensificación de procesos.

Agradecimiento. Los autores agradecen la Cátedra de Bioingeniería y Nano-biopartículas del Tecnológico de Monterrey (CAT161) por el apoyo económico brindado.

Bibliografía.

1. Solano-Castillo, C., Rito-Palomares, M. (2000). Kinetics of phase separation under different process and design parameters in aqueous two-phase systems. *Journal of Chromatography B*, 743 195–201
2. Wena, S., Zhangb T., Tanb, T.(2006). Maximizing production of glutathione by amino acid modulation and high-cell-density fed-batch culture of *Saccharomyces cerevisiae*. *Process Biochemistry* 41, 12, 2424-2428