



SEGUIMIENTO EN LINEA DEL POTENCIAL REDOX EN CULTIVOS MICROAEROFÍLICOS DE *Azotobacter vinelandii*

Andrés García¹, Daniel Segura², Enrique Galindo¹, Carlos Peña¹. Depto. de ¹Ingeniería Celular y Biocatálisis y Depto. de ²Microbiología Molecular. Instituto de Biotecnología-UNAM, Cuernavaca, Morelos, 62210, agromero@ibt.unam.mx

Palabras clave: *Azotobacter vinelandii*, potencial redox, condiciones microaerófilas

Introducción. *Azotobacter vinelandii* es una bacteria capaz de producir dos polímeros de interés comercial, el alginato y el poli-3-hidroxibutirato (PHB). Una forma de controlar la biosíntesis de alginato y PHB es a través de la manipulación de la tensión de oxígeno disuelto (TOD) (1). Sin embargo, debido a la alta velocidad de consumo de oxígeno que presenta esta bacteria, el valor de TOD se encuentra cercano a cero durante gran parte del cultivo, por lo que resulta difícil de medir. La velocidad de consumo de oxígeno (VCO) es un parámetro que ha permitido estudiar la región microaerófila (< 1% de TOD) (2). Al igual que la VCO, el potencial redox del cultivo (PRC) es otro parámetro de fermentación que permite monitorear el comportamiento del metabolismo celular, especialmente bajo condiciones anaeróbicas o microaerófilas (3).

El objetivo de este trabajo fue utilizar el PRC, como parámetro operacional, para seguir en línea cultivos de *A. vinelandii* bajo condiciones microaerófilas.

Metodología. Se utilizó la cepa de *A. vinelandii* ATCC 9046. Los cultivos en lote se operaron a 29 °C, 2 L de volumen de llenado y con un flujo de aire de 1 L min⁻¹. Se utilizó medio Burk suplementado con glucosa y sulfato de amonio, como fuente de carbono y nitrógeno, respectivamente. Los cultivos se llevaron a cabo en condiciones microaerófilas a una VCO_{max} de 6.2 mmol L⁻¹ h⁻¹ mediante la manipulación de la agitación a 500 rpm. La concentración de proteína se midió de acuerdo a lo descrito previamente (2). El PRC de los cultivos fue medido por un electrodo combinado de platino.

Resultados. En los cultivos se observó, en general, una correlación inversa entre la VCO y el PRC (Fig. 1a). En las primeras 10 h (etapa I), la TOD disminuyó a un nivel cercano a 0 %; sin embargo, el PRC se mantuvo constante (80 mV), lo cual indica que, en esta etapa, el nivel de oxígeno no influyó de manera significativa en el PRC. Posteriormente, en la segunda etapa (II), una vez que el cultivo se encontró limitado de oxígeno y la bacteria alcanzó su máxima VCO, se observó una disminución del PRC a 0 mV. Esta disminución en el PRC se debe principalmente al inicio del crecimiento exponencial de la bacteria (Fig. 1b). Durante la tercera etapa (III), tanto la VCO como la TOD se mantuvieron constantes; sin embargo, el PRC disminuyó hasta -40 mV debido a que la bacteria sigue creciendo (Fig. 1b).

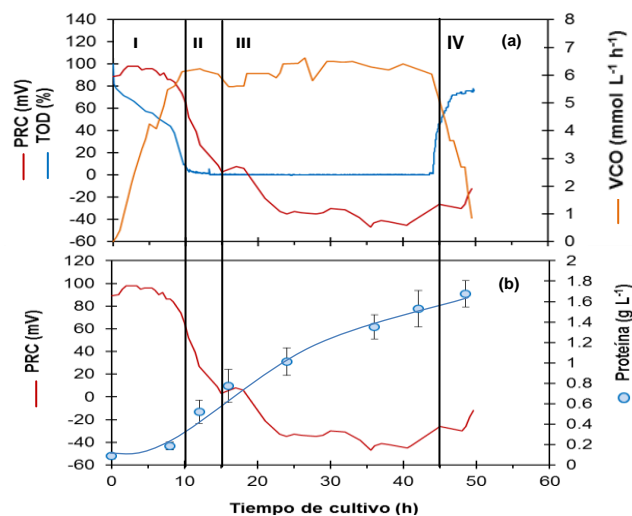


Fig. 1. Comportamiento del PRC, TOD y VCO (a), y del PRC y la cinética de crecimiento bacteriano (con base a proteína) (b) en cultivos en biorreactor a 500 rpm, en condiciones microaerófilas.

La reducción en el PRC del cultivo, ocasionada por el crecimiento de las células, ha sido descrita como la habilidad de los cultivos para acumular compuestos reducidos tales como tioles (3). En la última etapa (IV), cuando finalizó el crecimiento bacteriano, se observó un aumento en el PRC debido a la oxidación del medio por el aumento de la TOD, esto es debido a la autooxidación de los compuestos reductores presentes en el medio (3).

Conclusiones. El PRC es un parámetro de gran importancia ya que se puede usar para seguir en línea cultivos microaerófilos (< 1% de TOD). Esta capacidad se debe a que la mayoría de las reacciones metabólicas son del tipo óxido-reducción, lo cual se ve reflejado en el PRC. De tal manera que este parámetro brinda información de lo que puede estar sucediendo en el metabolismo celular.

Agradecimiento. Se agradece el apoyo de los proyectos DGAPA/UNAM (IT100513), Conacyt (238535) y la beca CONACyT (253834).

Bibliografía.

- Galindo E, Peña C, Núñez C, Segura D, Espín G. (2007). *Microbiol. Cell Fact* 7: 1-16.
- Díaz-Barrera A, Peña C, Galindo E. (2007). *Appl Microb Biotechnol* 76: 903-910.
- Meneses A, Gómez A, Ramírez OT. (1999). *Animal Cell Technology* 22-27.