



## ESTABLECIMIENTO DE UN CULTIVO DE CÉLULAS DE *Uncaria tomentosa* EN UN BIORREACTOR AGITADO CON UN IMPULSOR DE PALETAS INCLINADAS

Jorge I. Martínez Corona<sup>1</sup>, Gabriela Sepúlveda Jiménez<sup>1</sup>, Gabriela Trejo Tapia<sup>1</sup>, Ana C. Ramos Valdivia<sup>2</sup> y Mario Rodríguez Monroy<sup>1</sup>. 1. CEPROBI-IPN. Apdo. Postal 24. Yautepec, Morelos. México 62731. 2. CINVESTAV-IPN. Apdo. Postal 14-740. México 07000. Tel: (735) 3942020. mrmonroy@ipn.mx.

*Palabras clave:* *Uncaria*, alcalóides, biorreactor.

**Introducción.** El uso de impulsores de descarga radial (p. ej. Turbina Rushton) en biorreactores es considerado dañino para las células vegetales. Alternativamente, los impulsores con descarga axial (p. ej. Impulsor de Paletas Inclínadas – IPI) son propuestos como alternativa para el crecimiento de este tipo de células. No obstante, existen pocos reportes experimentales que sustenten lo anterior (1). El objetivo de este trabajo fue establecer un cultivo de *U. tomentosa* de alta densidad y evaluar el desempeño de un IPI en un biorreactor para el crecimiento y la producción de alcaloides oxindólicos monoterpénicos (OAM).

**Metodología.** La línea de *U. tomentosa* de fenotipo verde Uth-3 se mantuvo bajo las condiciones reportadas previamente (2). En cultivos en matraces, se probó el efecto de distintas concentraciones de sacarosa inicial (20- 50 g/L). Para el cultivo en biorreactor se utilizó la metodología propuesta por Trejo-Tapia y col. (2). Se usó un sistema de fermentación de 3 L agitado a 400 rpm (marca Applikon). El IPI fue de 5.2 cm de diámetro y tuvo 6 paletas de 1.5 cm x 1.5 cm inclinadas a 45°, la relación D/T fue 0.3. Como variables de respuesta se cuantificó la producción de biomasa, sacarosa residual, AOM e iridoides (precursores de los AOM).

**Resultados y Discusión.** Los resultados del cuadro 1 muestran que existe un aumento directamente proporcional de la producción de *U. tomentosa* (11.8 a 23.9 g PS/L), al incremento de la concentración de sacarosa (20 a 50 g/L). Además, el rendimiento de células/sacarosa consumida (Yx/s), se duplica al aumentar la concentración de sacarosa.

*Cuadro 1. Efecto de la concentración de sacarosa sobre el crecimiento y la producción de AOM en cultivos de U. tomentosa en Matraces Erlenmeyer*

Sacarosa (g/L)	Células (g PS/L)	Yx/s	AOM (µg/g PS)	Iridoides (µg/g PS)
20	11.8	0.2	5.6	0
30	16.9	0.3	18.2	0
40	19.5	0.3	24.7	0.02
50	23.9	0.4	11.2	0.04

Por otro lado, la producción de AOM se incrementa proporcionalmente a la concentración de sacarosa, presentando un valor máximo de 24.7 µg/L con 40 g/L de sacarosa. Pero con concentraciones de 40 y 50 g/L de

sacarosa, se da una ligera acumulación loganina (precursor de los AOM).

Los datos del cuadro 2 muestran que el IPI es favorable para el crecimiento de los cultivos de *U. tomentosa* y la producción de los AOM. Además, es posible mejorar 2.5 veces la concentración celular al aumentar la concentración de sacarosa de 20 a 50 g/L y se observó que el valor de Yx/s mejora. Estos resultados son consistentes con los obtenidos en matraces (cuadro 1). Por otro lado, el rendimiento de AOM obtenidos en el biorreactor con 20 g/L de sacarosa es el doble del obtenido con 50 g/L, un efecto contrario ocurre con los iridoides.

*Cuadro 2. Cultivos de U. tomentosa en un biorreactor agitado con un IPI: efecto del aumento de la concentración de sacarosa inicial.*

Sacarosa (g/L)	Células (gPS/L)	Yx/s	AOM (µg/g PS)	Iridoides (µg/g PSL)
20	13.8	0.37	30.6	0.6
50	35.4	0.51	14.1	1.1

En un estudio previo, se reportó el uso de un impulsor con descarga radial para el crecimiento de *U. tomentosa* obteniendo una producción de células de 11.9 g PS/L, con 20 g/L de sacarosa (2). El resultado obtenido en este trabajo (cuadro 2) muestra que el IPI, con la misma concentración de sacarosa, puede mejorar 0.15 veces la producción de células y si se aumenta la concentración de sacarosa a 50 g/L, el rendimiento celular es más del doble. Lo anterior, confirma la factibilidad de usar un impulsor de flujo axial, como un sistema alternativo al radial para el crecimiento del cultivo de *U. tomentosa*.

**Agradecimiento.** Este trabajo fue financiado por los proyectos CONACYT P43861-Z y SIP 20060039. J.M.C agradece la beca del CONACYT; PIFI y a la M.C. Gabriela Luna Palencia por el análisis de AOM e iridoides.

### **Bibliografía.**

- Doran, P. M. 1999. Design of mixing systems for plant cell suspension in stirred reactors. *Biot Prog.* 15:319-335.
- Trejo-Tapia, G, García-Rojas, C, Rodríguez-Monroy, M, and Ramos-Valdivia, A. 2005. Monoterpenoid oxindole alkaloid production by *Uncaria tomentosa* (Willd) D.C. cell suspension culture in a stirred tank bioreactor. *Biot Prog.* 21(3): 786-792.