

OBTENCIÓN DE UN MEDIO QUÍMICAMENTE DEFINIDO PARA EL CRECIMIENTO DE *Cellulomonas flavigena* EN GLICEROL.

Jesús Vega, Luis B. Flores, Ma. del Carmen Montes. Departamento de Biotecnología y Bioingeniería. CINVESTAV-IPN. Av. IPN 2508 Col Zacatenco, C.P. 07300 México D.F. Fax 01 57477000 ext 4305 e-mail: cmontes@mail.cinvestav.mx

Palabras Clave: *Cellulomonas*, xilanasas, medio de cultivo

Introducción. En trabajos previos se ha observado que el extracto de levadura tiene efecto sobre el crecimiento y la actividad xilanolítica de *Cellulomonas flavigena* al igual que algunos minerales sobre la actividad enzimática (1). Sin embargo, un medio que contiene extracto de levadura tiene la desventaja de no ser un medio químicamente definido y en muchos casos puede ser variable. Además, debido a que no es posible identificar al nutriente limitante o favorable, los resultados obtenidos son difíciles de interpretar y se pueden pasar por alto efectos regulatorios importantes. En este trabajo se estudió el efecto de Fe, Mn, Zn, Co, Cu, Ba y Ca sobre el crecimiento de *Cellulomonas flavigena* con la finalidad de establecer un medio químicamente definido para la obtención de un cultivo de alta densidad celular.

Metodología. El inóculo de *Cellulomonas flavigena* CDBB531 se preparó en un medio basal (MB) con glicerol al 1%, (g/l): 2.5 (NH₄)₂SO₄; 0.25 NaCl; 0.1 MgSO₄; 0.1 CaCl₂ 2H₂O en buffer de fosfatos de potasio 0.05 M, pH 7, biotina y tiamina. Al medio basal se le adicionaron diferentes cantidades (ml) de solución concentrada de microelementos y un inóculo al 10% v/v. El cultivo fue incubado a 37°C y 150 r.p.m. por 60 h. Se determinó el crecimiento celular por turbidimetría. En el medio basal con microelementos donde se obtuvo el crecimiento máximo (medio MBM), se evaluó el efecto individual de cada microelemento reduciendo su concentración hasta condiciones de limitación del medio de cultivo para determinar los requerimientos específicos de cada ión.

Resultados y Discusión. En la fig. 1 se observa que la suplementación de microelementos al medio basal aumentó el crecimiento de *C. flavigena*, lo que indica una limitación de al menos uno de los micronutrientes en el medio basal. La adición de solo 0.08 ml/l de solución de microelementos produjo el máximo crecimiento, 4.5 veces mayor que el obtenido en el medio basal. Sin embargo, al incrementar el volumen de solución adicionada se observa un ligero efecto de inhibición. En la figura 2, se observa el efecto en crecimiento de disminuir la concentración de cada microelemento a solo 10% de la concentración presente en el medio MBM. A excepción del calcio se puede observar una reducción del crecimiento con todos los micronutrientes, lo que indica una limitación del crecimiento al reducir cada uno de los componentes. Cuando el cultivo se realizó en el medio basal y sin ningún microelemento el crecimiento se redujo por un factor de 10 (no mostrado).

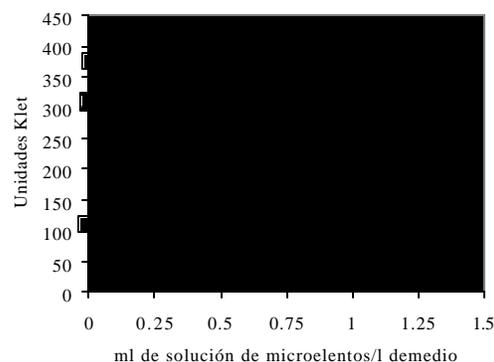


Fig. 1. Efecto de la adición de los microelementos sobre el crecimiento de *Cellulomonas flavigena* en glicerol al 1%.

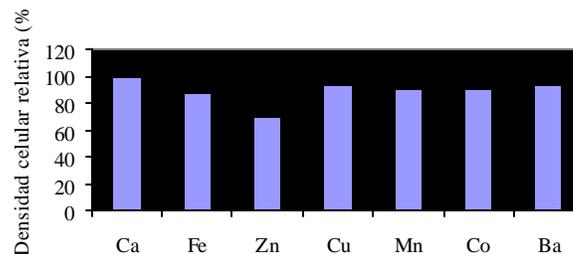


Fig. 1. Crecimiento máximo de *Cellulomonas flavigena* con la eliminación del micronutriente en el medio de cultivo.

Considerando un $Y_{x/s}$ de 0.5 g biomasa/g sustrato por cada 10 g/l de glicerol se requieren (g/l): 2.5 (NH₄)₂SO₄; 0.25 NaCl; 0.1 MgSO₄ 7H₂O; 0.013 CaCl₂ 2H₂O; En (μ g/l): 7 CuCl₂ 2H₂O; 21 MnCl₂ 4H₂O; 1.16 CoCl₂ 6H₂O; 11.62 BaCl₂ 2H₂O; 0.13 Na₂MoO₄ 2H₂O; 1.73 Na₂B₄O₇ 10H₂O; 1.3 KI; 120 FeSO₄ 7H₂O; 150 ZnSO₄ 7H₂O; 12.5 NiSO₄ 6H₂O en regulador fosfatos-potasio 0.04 M pH 7.0 con biotina y tiamina.

Conclusiones. Con este medio químicamente definido ha sido posible realizar cultivos de alta densidad celular (100 mg/ml) sin la adición de extracto de levadura ni agua de la llave, evitando los problemas que esto representa.

Agradecimientos. Por su apoyo técnico a la T.L.Q Carmen Fontaine y al CINVESTAV por el financiamiento en el desarrollo de este trabajo.

Bibliografía.

1. Montes, C., López, J., Plaza, I. (1998) Xylanases from *Cellulomonas flavigena*: purification and characterization. *Biotech. Lett.* 12(9):663-666.

