

DETERMINACION DE LOS PARAMETROS CINETICOS DEL CONSUMO DE METANOL POR *Pichia methanolica* EN MEDIO LIQUIDO.

Adriana Santana^{1,*}, Sergio Revah¹, Pierre Christen^{1,2}.

1. Laboratorio de Bioprocesos, UAM-Iztapalapa, Av. Purísima y Michoacán S/N C.P.09340, México D.F. MÉXICO.

Fax (0155) 5804-6407, email: adri_sant@hotmail.com

2. Institut de Recherche pour le Développement (IRD), FRANCE

Palabras clave: *Pichia methanolica*, metanol, microcosmo.

Introducción. El metanol es un compuesto orgánico volátil (COV) ampliamente empleado en el mundo como solvente y liberado al ambiente por varias industrias (papel, madera, pintura, farmacéutica, química, etc...) reportándose en 1999 emisiones de 104,031 toneladas en Estados Unidos. El metanol es dañino para la salud (afecta al sistema nervioso, al hígado, etc..) y además, al contacto con el aire genera formaldehído, un compuesto cancerígeno. Se permite una exposición máxima a 200 ppm por 8 horas.

Una alternativa en el tratamiento de los COVs es el uso de microorganismos en biofiltros. Así se reporta a *Pichia methanolica* como una levadura capaz de usar el metanol como única fuente de carbono. Además se puede manipular genéticamente de forma tal que a la par que consume el metanol produzca proteínas heterólogas de interés [1].

El objetivo de este trabajo es el obtener los parámetros de crecimiento de *P. methanolica* en medio líquido con metanol, como estudio previo al empleo de esta levadura en un biofiltro tratando este COV.

Metodología. En un primer paso, se determinó el coeficiente de partición para el metanol entre el aire y un medio mineral (MM) en solución previamente usado con *P. pastoris* [1], a 30°C en un sistema cerrado.

La cepa *P. methanolica* PMAD 11 (Invitrogen), se cultivó sobre metanol (365 mmol/l) con 2 medios minerales: Yeast Nitrogen Base (YNB) y MM. Los parámetros del consumo de metanol se determinaron realizando experimentos en microcosmos (cuadro 1), con las condiciones siguientes: YNB 6.7g/l o NaCl 9 g/l, metanol 245.8 mmol/l, tasa de inóculo 5% v/v, temperatura 30°C, agitación 200 r.p.m.

Cuadro 1 Parámetros evaluados en microcosmo

Condiciones	Parámetro
1. YNB + metanol + inóculo	$Y_{X/S}$, q_s
2. NaCl + metanol + inóculo	Mantenimiento (m)
3. YNB + inóculo	Respiración endógena
4. YNB + metanol	Control abiótico

Metanol, CO₂ y O₂ se determinaron por cromatografía de gases.

Resultados y discusión. El coeficiente de partición del metanol fue de 7438 (g/m³)_{MM}/(g/m³)_{gas}, superior al valor de la constante de Henry que es de 3651 (g/m³)_{liq}/(g/m³)_{gas}.

A las 56 h de los experimentos realizados en matraces abiertos, se alcanzó una biomasa de 0.34 g/l en medio MM y de 0.51 g/l en medio YNB ($\mu_{max} = 0.047 \text{ h}^{-1}$). Por lo tanto, en los experimentos posteriores, se utilizara el medio YNB.

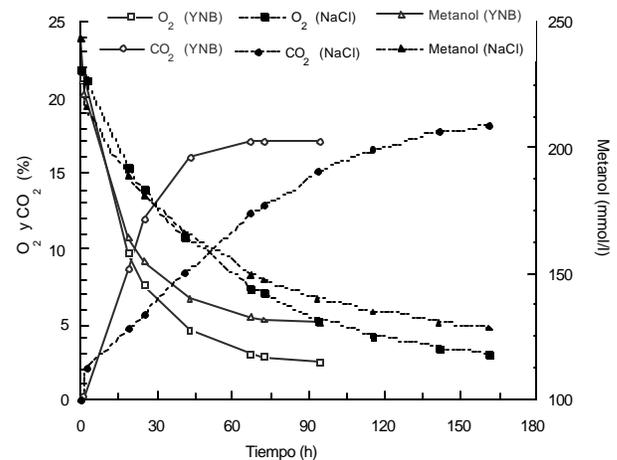


Fig.1. Perfiles de metanol, O₂ y CO₂ en microcosmo.

En microcosmo, las células en crecimiento (YNB), y en mantenimiento (NaCl) presentan perfiles de consumo de metanol y de O₂ muy similares (Fig 1). El rendimiento de conversión del metanol en biomasa y la velocidad de consumo del metanol obtenidos (cuadro 2) son comparables con los reportados para *P. pastoris* [2]. La q_s permite estimar una capacidad de eliminación de 180 g metanol/m³ h en un biofiltro con base en 100 mg biomasa/g de soporte seco. Se produjeron 3.3 mg/ml de biomasa con YNB y 1.4 mg/ml en medio NaCl, probablemente a partir de material celular.

Cuadro 2. Parámetros cinéticos obtenidos en microcosmo.

Parámetro	Valor
$Y_{X/S}$	0.811 g biomasa /g metanol
q_s	0.0205 g metanol /g biomasa h
Mantenimiento	0.011 g metanol /g biomasa h
Respiración endógena	0.0019 g CO ₂ /g biomasa h.

Conclusiones. El medio mineral YNB es adecuado para el crecimiento de *P. methanolica*, pero en ausencia de este (mantenimiento), el consumo de metanol se mantiene alto, lo que es interesante para una futura aplicación en biofiltración.

Bibliografía.

- Cornabé T, Auria R, Christen P, Ferrer H, Revah S, Moukha S. (2002). Biofiltration of methanol vapors with a recombinant *Pichia pastoris* strain. En: Proceedings of 5th Int. Conf. on Biofiltration, Newport Beach, USA. 11-16.
- d'Anjou MC, Daugulis AJ. (2001). A rational approach to improving productivity in recombinant *Pichia pastoris* fermentation. *Biotech. Bioeng.* 72, 1-11.