

DESARROLLO DE CONDICIONES QUE FACILITAN EL ESCALAMIENTO DE LA PRODUCCIÓN DE ALGINATO POR *Azotobacter vinelandii*

R. E. Méndez-Juárez, S. R. Bellara y E. Galindo

Departamento de Bioingeniería, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Apdo. Postal 510-3, Cuernavaca 62250, e-mail: eli@ibt.unam.mx. Fax: (52) (7) 3 172388

Palabras clave: Alginatos, *Azotobacter vinelandii*, medio de cultivo, Escalamiento

Introducción. Los alginatos son polisacáridos lineales, con aplicación en la industria alimentaria y farmacéutica. Las condiciones de cultivo que han resultado mejores para la producción de alginato (1) son poco susceptibles de escalarse, principalmente por el alto costo del medio de cultivo (medio Burk, con extracto de levadura y MOPS) y la forma de hacer el control de la TOD (con mezcla de gases, alimentando oxígeno puro). Una de las etapas más caras del proceso es la recuperación del producto (por precipitación con alcohol) cuando se tienen caldos muy diluidos. La ultrafiltración (UF) es una técnica con potencial para concentrar estos caldos y reducir los costos de recuperación. Sin embargo, se sabe que el proceso de UF se ve afectado por el “fouling” (acumulación de componentes proteicos del medio sobre la membrana), por lo que es conveniente evitar estos componentes. El objetivo de este estudio fue formular un medio de cultivo de menor costo, sin componentes proteicos y evaluar el control de la TOD por agitación (alimentando solo aire), que permitiera su escalamiento y facilitara la eventual concentración del alginato por ultrafiltración.

Metodología. Se utilizó la cepa de *Azotobacter vinelandii* ATCC 9046. En matraces se evaluó la sustitución del extracto de levadura (3.0 g/L) por acetato de amonio (1 g/L) y la eliminación del MOPS (1.4 g/L), sobre la síntesis de alginato, bajo las mejores condiciones reportadas para matraces (1). Posteriormente, se llevó a cabo un cultivo (por triplicado) en biorreactores de 14 L (6 L de medio de cultivo y 0.6 L de preinóculo, generado en matraces Fernbach de 2 L), utilizando el nuevo medio de cultivo, una turbina Rushton ($D_{impulsor}/D_{tanque}=0.5$), 1 vvm de aireación y una agitación de 200-300 rpm para controlar (manualmente) la TOD a 1 %. La máxima potencia suministrada (a 300 rpm) fue de 0.8 kW/m³. Los parámetros monitoreados fueron: concentración de biomasa, alginato, peso molecular promedio (PMP) y viscosidad, usando las técnicas previamente reportadas (1).

Resultados y Discusión. Los resultados de la comparación de ambos medios (en matraces) se muestran en la tabla 1. Con el medio nuevo se logró una concentración menor de alginato y una mayor cantidad de biomasa. Sin embargo, si se compara en términos de costos de producción, el medio nuevo resultó ser un 55 % más barato. La diferencia en la viscosidad puede ser un reflejo de la concentración de alginato. En consecuencia, este medio se probó en un fermentador de 6.6 L, donde se evaluó también la posibilidad de controlar la TOD mediante la agitación.

Tabla 1. Comparación de dos medios de cultivo en matraces (72 h).

Parámetro	Medio Burk (1)	Medio nuevo
Biomasa (g/L)	5.0	5.8
Alginato (g/L)	4.5	3.5
Viscosidad (cps)	500	400
Costo (\$ US / L)	0.16	0.07

La tabla 2 muestra los resultados, mismos que se que compararon con los reportados por Peña *et al* (1) para el medio Burk y TOD \approx 1%, controlada con mezcla de gases. A TOD constante, el medio nuevo -comparado con el medio Burk- promovió una mayor concentración de biomasa total (2.2 veces) y una menor producción de alginato (0.8 veces). Debe destacarse, sin embargo, que la calidad del alginato (PMP) fue muy similar. A pesar de que el rendimiento ($Y_{p/x}$) fue menor para el medio nuevo, el costo por gramo de alginato fue menor.

Tabla 2. Comparación de los dos medios de cultivo (60 h).

Medio de cultivo	US \$ / g alginato	Escala (L)	Biomasa (g/L)	Alginato (g/L)	PMP (KDa)	$Y_{p/x}$
Burk	0.064	1.0 *	3.0 *	2.5 *	266 *	0.8*
Nuevo	0.035	6.6	6.6	2.0	296	0.3

*Peña *et al* (1)

Conclusiones. La sustitución del extracto de levadura por acetato de amonio y la eliminación del MOPS, a pesar de que promueve un mayor crecimiento de biomasa y una menor producción de alginato, reduce a la mitad el costo del medio y permite generar materia prima atractiva para la UF. La calidad del alginato parece no afectarse cuando se mantiene constante la TOD, sin importar la forma de control o la composición del medio.

Agradecimientos. Se agradece el apoyo financiero a DGAPA-UNAM (proyecto IN-216700) y el apoyo técnico de Mario A. Caro y Verónica Albíter (Planta Piloto de IBT-UNAM).

Bibliografía

1. Peña, C., Trujillo-Roldán, M., Galindo, E. (2000). Influence of dissolved oxygen tension and agitation speed on alginate production and its molecular weight, by *Azotobacter vinelandii*. *Enzyme Microb. Technol.* 27:390-398.