

EFFECTO DE LA ALTA DENSIDAD CELULAR SOBRE EL METABOLISMO Y PARÁMETROS CINÉTICOS DE *Candida utilis*.

Leobardo Ordaz^{1*}, Ruth López², Orlando Melchy², Mayra De la Torre².

Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología, IPN¹. Av. Acueducto S/N, Domicilio conocido, Barrio la Laguna Ticomán, México D.F. C.P. 07340. Centro de Investigación y Estudios Avanzados IPN, Dpto. de Biotecnología y Bioingeniería². Av. IPN No. 2508 Col. San Pedro Zacatenco, México D.F. C.P. 07360. Teléfono 5747-3800 ext. 4318. Fax: 5747-3800 ext. 4305. Email: leordazcon@yahoo.com.mx.

Palabras clave: *Candida utilis*, alta densidad celular, metabolismo respiro-fermentativo.

INTRODUCCIÓN. Las fermentaciones con alta densidad celular presentan grandes ventajas con respecto a las que no se realizan bajo esta condición. Entre otras se pueden mencionar las siguientes: la productividad se incrementa sustancialmente, los riesgos de contaminación se ven disminuidos y se mejora la eficiencia de los procesos de separación y recuperación del producto. Sin embargo, para el establecimiento de alta densidad celular en una fermentación, se deben tomar en consideración ciertos factores que limitan el proceso y estudiar los efectos que la misma alta densidad impone al proceso de fermentación (1). Entre los factores que limitan el proceso se encuentran la velocidad de transferencia de oxígeno y calor que presente el sistema, la acumulación del producto o subproductos propios del metabolismo (como pueden ser etanol, ácidos orgánicos, dióxido de carbono disuelto, etc.) que pueden inhibir el crecimiento y producción.

Se han reportado distintas técnicas para el establecimiento de este tipo de procesos. Algunas han realizado cultivo continuo a bajas velocidades de dilución con alta concentración de sustrato en la alimentación, empleando reactores tipo "jet loop" con altas velocidades de transferencia de oxígeno y de calor (2).

En este trabajo se reportan los parámetros cinéticos y los cambios metabólicos que ocurren en *Candida utilis* creciendo a baja y alta densidad celular, en cultivo continuo con glucosa y melazas como fuente de carbono y energía.

METODOLOGÍA. Se creció *Candida utilis* NRRL Y-900 en cultivo continuo en un fermentador (Chemap AG) de 4 litros de volumen de operación a 35°C, 1000 a 1250 r.p.m. y flujo de aire variable (enriquecido con oxígeno puro). Se utilizó glucosa y melaza como fuentes de carbono a concentraciones de 30 y 100 g de azúcares reductores/l. Las velocidades de transferencia de oxígeno y de calor del sistema no limitaron el proceso. El pH se mantuvo en 4 a través de la adición automática de una solución de (NH₄)OH al 38% p/v. Las muestras de estado estacionario se tomaron directamente de la salida del reactor colectándose en un baño de hielo. Las determinaciones analíticas practicadas a las muestras fueron, peso seco celular, concentración de sustrato residual, etanol, ácido pirúvico y acético.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN. En la figura 1 se muestra el comportamiento típico de *C. utilis* creciendo en cultivo continuo a diferentes velocidades de dilución, con glucosa y melaza a 30 y 100 g/l. Datos no reportados aquí, muestran

que a ciertas velocidades de dilución ocurren cambios abruptos en las tendencias del rendimiento celular y de la velocidad específica de consumo de oxígeno con respecto a la velocidad de dilución, trabajando con glucosa y melaza a 30 y 100 g/l. De acuerdo con estos resultados *C. utilis* muestra un cambio de metabolismo de puramente respiratorio a respiro-fermentativo como consecuencia de un sobreflujo del metabolismo a nivel de piruvato que la hace excretar al medio etanol y ácido acético y pirúvico. El cambio de metabolismo ocurre a menor velocidad de dilución cuando se utiliza glucosa en comparación a melaza. Estos resultados sugieren que el mecanismo y competencia en el transporte de azúcares al interior celular puede ser responsable de dicho cambio metabólico; al estar presente la fructosa en las melazas tratadas, puede disminuir el flujo de la ruta glicolítica, retardando el cambio metabólico en comparación a un medio con glucosa como fuente exclusiva de carbono.

CONCLUSIONES. De acuerdo a como ha sugerido Colowick (3), es probable que la competencia en el transporte de azúcares al interior celular entre la glucosa y fructosa sea responsable de que el cambio en el metabolismo de *C. utilis* ocurra a menor velocidad de dilución cuando se utiliza exclusivamente glucosa como fuente de carbono que cuando se utiliza melaza tratada.

AGRADECIMIENTO. Al STIARM.

BIBLIOGRAFÍA.

- Lee, S.Y. (1996). High cell density culture of *Escherichia coli*. TIBITECH 14: 98-105.
- De la Torre, M., Flores, L.B., and Chong, E. (1994). High cell density yeast production: Process synthesis and scale-up. In: Galindo, E., and Raírez, T. (eds). Advances in Bioprocess Engineering. Kluwer Academic Publishers, Netherlands, pp 67-74.
- Colowick, S.P. (1973). The hexokinases. In: Boyer, P.D. (ed). The enzymes. Academic Press, NY, 9: 1-48.

