

INFLUENCIA DE LAS CONDICIONES HIDRODINÁMICAS DE CULTIVO SOBRE LA AGREGACION DE *Azotobacter vinelandii*

César Reyes, Carlos Peña y Enrique Galindo

Departamento de Bioingeniería, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México

Apdo. Post. 510-3, Cuernavaca, 62250 Morelos, MEXICO

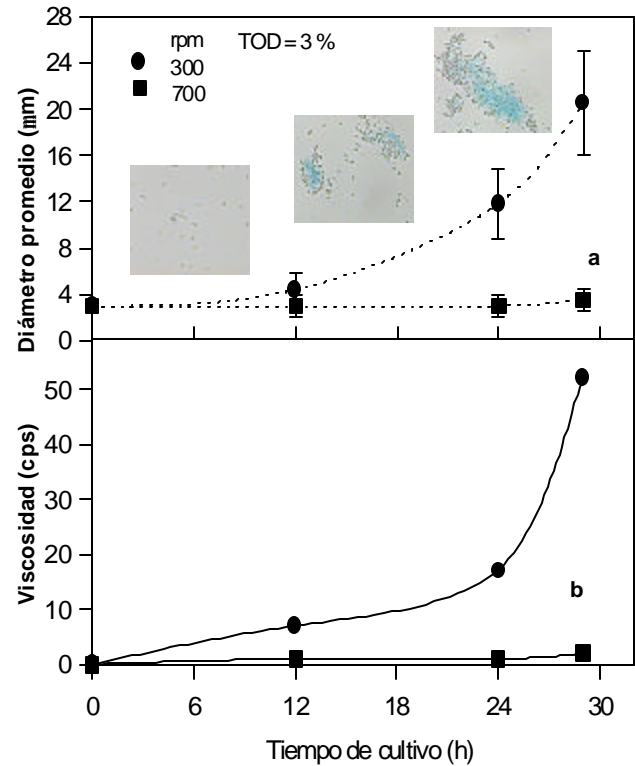
Fax: (52) (7) 3 17 23 88, e-mail: cesarey@ibt.unam.mx

Palabras clave: *alginato*, *Azotobacter vinelandii*, *agregación*

Introducción. *Azotobacter vinelandii* forma agregados bajo condiciones extremas de aireación y agitación (1). Se encontró que en condiciones de menor aireación y mezclado (matraces no-bafleados), la bacteria forma agregados de mayor tamaño respecto a los que se encuentran en condiciones de mayor turbulencia (matraces bafleados) (1). Dado que en estos sistemas no es posible discriminar entre la influencia del oxígeno disuelto y de aquellas debidas a la hidrodinámica, el presente trabajo tuvo como objetivo el estudiar la influencia de las condiciones de mezclado bajo condiciones de oxígeno disuelto constante, sobre la agregación de *A. vinelandii*, en cultivos para la producción de alginato.

Metodología. Se caracterizó la agregación de *A. vinelandii* de cultivos llevados a cabo en un fermentador de 1 L a 300 y 700 rpm, a tensión de oxígeno disuelto constante del 3 % de saturación. 1 mL de caldo con células fueron teñidas con 10 μ L de azul de metileno al 1 % y observadas con el objetivo de 40x en un microscopio óptico. Las imágenes se obtuvieron mediante una videocámara acoplada al microscopio y fueron analizadas usando el programa Image-Pro Plus (v. 4.1) (2). Para cada muestra se analizaron 50 imágenes, equivalente a 700 – 1000 objetos. La viscosidad del caldo se midió con un viscosímetro de cono y plato (Wells-Brookfield LVT, Series 82198), a 6 rpm, que corresponde a una velocidad de deformación de 12 s^{-1} .

Resultados y Discusión. La Fig. 1 (a) indica que el tamaño de los agregados depende principalmente de las condiciones hidrodinámicas del cultivo, más que del oxígeno disuelto. A 300 rpm, se observó un aumento considerable del tamaño de agregado, hasta llegar a un máximo de 21 μm de diámetro promedio (DP), a las 28 horas de cultivo. A diferencia, a 700 rpm, la mayoría de las células se observaron en forma individual con un DP menor a 3 μm . La Fig. 1 (b) indica que el tamaño del agregado está estrechamente asociado con la viscosidad del cultivo; las viscosidades altas son coincidentes con mayores tamaños de los agregados. Condiciones hidrodinámicas con restricciones convectivas (como a 300 rpm) determinan la producción de alginatos de alto peso molecular. Ello aumenta la viscosidad del cultivo y ésta, a su vez, contribuye a la formación de agregados de *A. vinelandii*.



Conclusiones. Bajas velocidades de agitación del cultivo y no el nivel de oxígeno disuelto en el seno del líquido, determinan la formación de agregados de *A. vinelandii*.

Agradecimientos. Apoyo financiero del CONACyT (proyectos I3010-B y 31540-B).

Bibliografía

- Peña, C., Campos, N., Galindo, E. (1997). Changes in alginate molecular mass distributions, broth viscosity and morphology of *Azotobacter vinelandii* cultured in shake flasks. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 48:510-515.
- Reyes, C. (2000). Cuantificación de la agregación de *Azotobacter vinelandii* por medio de análisis de imágenes y su impacto en la producción de alginato. Tesis de Licenciatura en Biología. Universidad Autónoma del Estado de México.

Fig 1. Evolución del tamaño de agregado (a) y de la viscosidad del caldo de cultivo (b) durante la producción de alginato a dos velocidades de agitación y oxígeno disuelto constante del 3 %.