

CULTIVO POR LOTE ALIMENTADO DE *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* A ALTA CONCENTRACION CELULAR.

Orlando Melchy, Calixto Ortega, Alberto Marínez, Francisco Flores, Octavio Gómez, Juan Sánchez y Mayra de la Torre*
 Planta Piloto de Fermentaciones del Departamento de Biotecnología
 Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN.
 Av. IPN 2508, Col. Sn. Pedro Zacatenco. 07000 México, D.F.
 *E-mail: MMDELATO@MAIL.CINVESTAV.MX

Palabras claves: Saccharomyces cerevisiae, lote alimentado; formación aeróbica de etanol

Introducción. La formación aeróbica de etanol por *Saccharomyces cerevisiae* a partir de glucosa debido al metabolismo de sobreflujo ó efecto Crabtree, se observa en las diferentes técnicas de cultivo: lote, lote alimentado y continuo. El lote alimentado es la técnica predominante para la producción industrial de la levadura¹. La formación aeróbica de etanol reduce el rendimiento de la biomasa. Procesos de alta concentración celular de la levadura se encuentran actualmente en estudio con el objeto de mejorar la economía del proceso. Tales procesos requieren entonces en primera instancia, de una estrategia que permita el control de la formación aeróbica de etanol. Sin embargo, la aplicación de las estrategias desarrolladas en la actualidad presenta varios inconvenientes para una aplicación industrial simple, comenzando por la dificultad de establecer una alimentación adecuada bajo la consideración de un volumen variable.

El objetivo del presente trabajo fue el desarrollo de una estrategia simple de alimentación del cultivo por lote alimentado para controlar la formación aeróbica de etanol y maximizar el rendimiento del sustrato en biomasa.

Metodología. Se empleó un cultivo puro de levadura *Saccharomyces cerevisiae* (ATCC 9763) y sacarosa como sustrato en un medio mineral similar al descrito por Verduyn². Las fermentaciones se llevaron a cabo en biorreactores de 3 y 30 L. El flujo de alimentación (F) se controló manualmente, para obtener una velocidad específica de crecimiento (μ) constante. La variación del flujo F(t), se calculó de acuerdo a la solución planteada a las siguientes ecuaciones considerando la variación de volumen (V) respecto al tiempo (t):

$$F(t) = q_s C_x(t) V(t) / C_{s_a} \dots\dots\dots(1)$$

donde: C_{s_a} es Concentración de sustrato en alimentación, q_s el consumo específico de sustrato, C_x la concentración celular y $V(t) = V_0 + F(t) t \dots\dots\dots(2)$

donde: V_0 = volumen inicial

Dado que F es directamente función de (μ) y considerando la transformada directa de Laplace para un flujo exponencial, se tiene: $F(s) = F_0 (1/(s-a))$ para $s > a \dots\dots\dots(3)$

donde a y s son constantes de la función

si $dt = s$ entonces $a = \mu$; así para $dt = 1$:

$$F(1) = F_0 (1/(1-\mu)) \text{ y } F(t) = F(t-1) (1/(1-\mu)) \dots\dots\dots(4)$$

Resultados y Discusión. La aplicación experimental en un biorreactor de 30 L de la ecuación 4, con μ de 0.19 1/h y un flujo inicial (F_0) calculado con la ecuación 1, se muestra en la figura 1.

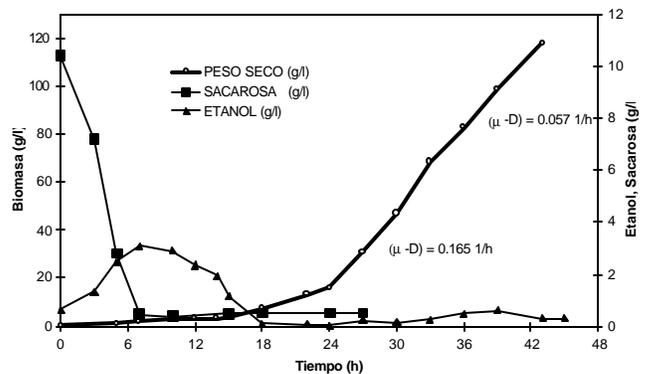


Fig. 1. Cinética del crecimiento de levadura en lote alimentado

El flujo de alimentación se incrementó cada hora en $1/(1-a) = 1.246$ desde las 15 h de edad hasta las 30 h, después la alimentación se mantuvo constante hasta las 42 h. La primera fase de alimentación mostró un valor de μ (promedio) = 0.199 1/h el valor experimental de la constante (a) de la ecuación 3 fue de 0.197. En la segunda fase, existió formación anaeróbica de etanol con una μ media de 0.13 1/h debido a la limitación en transferencia de oxígeno del fermentador. Después de 42 h, la concentración final de biomasa fue de 119 g/l y el $Y_{x/s}$ fue de 0.5 y 0.3 (g células/ g sustrato) para la primera y segunda fase de alimentación respectivamente.

Conclusiones. La solución propuesta a las ecuaciones de balance para un ajuste manual de la alimentación en la primera fase, mostró ser válida para los fines del control de la formación aeróbica de etanol obteniéndose el máximo rendimiento del sustrato en biomasa. En concordancia con lo reportado en literatura², el análisis cinético de los resultados mostró que la máxima velocidad específica de crecimiento permisible para evitar formación aeróbica de etanol es de 0.190 1/h. La formación anaeróbica de etanol continua siendo un problema de transferencia de oxígeno con solución en el diseño de biorreactores.

Bibliografía.

1. Pham, H., Larsson, G., Enfors, S. (1998). Aerobic Fed-Batch Cultures of *Saccharomyces cerevisiae*: Simulation and model Verification. *Biotechnol. Bioeng.* 60 (4) 474-482.
2. van Hoek, P., de Hulster, E., van Dijken, J., Pronk, J.(2000). Fermentative Capacity in Fed-Batch Cultures of Baker's Yeast. *Biotechnol. Bioeng.* 68 (5) 517-523.

