

TRANSFERENCIA DE OXIGENO EN LA FERMENTACIÓN CON *Bacillus thuringiensis*

OXYGEN MASS TRANSFER IN FERMENTATION OF *Bacillus thuringiensis* Ríos R¹, Buitrago G².

RESUMEN

Este trabajo se realizó con el propósito de implementar un modelo teórico a partir de la relación entre la velocidad de transferencia de oxígeno (OTR) y la demanda bioquímica de oxígeno (OUR), para hallar diferentes condiciones de velocidad de agitación y aireación, que determinan los coeficientes de transferencia de oxígeno, bajo las cuales el crecimiento microbiano no se vea afectado por deficiencias en el suministro de oxígeno. Tal correlación se adaptó al cultivo con *Bacillus thuringiensis* de manera que permita estimar para una concentración de biomasa máxima deseada, cual es la velocidad de suministro de oxígeno requerida para que no se presenten limitaciones de oxígeno en el cultivo.

Palabras claves: *Bacillus thuringiensis*, crecimiento limitado por oxígeno, transferencia de oxígeno.

SUMMARY

The purpose of this work was to obtain a correlation based on literature, depicting the relationships between the physical oxygen transfer rate (OTR) and microbial oxygen uptake rate (OUR) in order to determine the conditions (mass transfer coefficient, resulting on different combinations of aeration and agitation rates), under which growth will not be limited by oxygen. This correlation was adapted to culture with *B. thuringiensis* in order to estimate what biomass concentration are feasible for the physical limits set by operations conditions before microbial activity becomes limited by oxygen.

Keywords: *Bacillus thuringiensis*, oxygen limited growth, oxygen transfer

INTRODUCCIÓN

Bacillus thuringiensis (Bt) es el microorganismo más ampliamente usado en el control biológico de plagas en razón a que produce proteínas cristalinas, durante la fase de esporulación, que presentan actividad biocida contra insectos que atacan diferentes cultivos. Así, los biopesticidas a base de Bt son eficaces, biodegradables y de alta especificidad al estado larvario de insectos plaga. El ingrediente activo de estos biopesticidas está

constituido por un cristal paraesporal proteico y la espora del microorganismo; la producción de este ingrediente activo se hace a partir de fermentaciones que deben proveer las condiciones de cultivo apropiadas para el crecimiento del Bt y la formación del cristal y las esporas (Aronson y Bekman, 1986; De Urquijo, 1987).

Entre los factores más importantes para el crecimiento y la síntesis del cristal proteico, se incluye la concentración de oxígeno disuelto (O.D.) y la velocidad a la que se suministra oxígeno en el caldo fermentativo (Holmberg y Sievanen, 1980; Pearson y Ward, 1983). La baja solubilidad del oxígeno en los medios de cultivo y las diferentes resistencias a su transferencia, condicionan la velocidad a la que es transferido este nutriente. El coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno ($K_L a$) refleja la capacidad de suministro de oxígeno en un determinado sistema, sistema que está conformado por la cepa de Bt que se esté usando, el medio de cultivo y el fermentador, y solamente suministrará el oxígeno requerido por una determinada concentración de biomasa. Un valor de $K_L a$ es el resultado de la combinación de diferentes valores de velocidad de agitación y aireación y del diseño geométrico del fermentador (Aiba y Humphrey, 1973; Oldshue, 1983). Así, es importante conocer la máxima concentración de biomasa que es posible alcanzar con una determinada velocidad de suministro de oxígeno, antes de que el cultivo se vea limitado en este nutriente.

Este trabajo se enfocó a desarrollar un modelo teórico basado en la literatura que permita determinar las condiciones de operación para las cuales el cultivo no presenta deficiencias en el suministro de oxígeno, a partir del conocimiento de la velocidad específica de crecimiento del microorganismo (μ), la velocidad de transferencia de oxígeno (OTR) y la demanda bioquímica de oxígeno (OUR) (Kargy y Moo-Young, 1984; Sinclair y Mavituna, 1985). Posteriormente se validó el modelo desarrollando fermentaciones con tres cepas nativas, IBUN2.6, IBUN28.1, IBUN3.3 y la cepa HD-25.

¹ Facultad de Ingeniería. Universidad de Antioquia

² Instituto de Biotecnología. Universidad Nacional de Colombia, e-mail: gbuitrag@ibun.unal.edu.co

Tabla 1. Variables y Ecuaciones Base del Modelo.

Variable	Ecuación	Variabes de la ecuación	Número de ecuación
Demanda bioquímica de oxígeno (OUR)	$OUR = q_{O_2} X$	q_{O_2} es la demanda bioquímica específica de oxígeno, X la concentración de biomasa	(1)
Demanda bioquímica específica de oxígeno (q_{O_2})	$q_{O_2} = \frac{\mu}{Y_{O_2}}$	es la velocidad específica de crecimiento, Y_{O_2} es el coeficiente de rendimiento basado en el consumo de oxígeno como sustrato	(2)
Velocidad de transferencia de oxígeno (OTR)	$OTR = K_L a (C^* - C_L)$	C^* es la concentración de O.D. en la condición de saturación y C_L es la concentración de O.D. en el medio líquido	(3)

DEDUCCIÓN DEL MODELO.

El modelo se desarrolló tomando como base las ecuaciones que se presentan en la tabla 1 y que relacionan la demanda y la velocidad de transferencia de oxígeno.

A partir de las ecuaciones (1) y (2) se establece que la demanda bioquímica de oxígeno se puede representar por:

$$OUR = \frac{\mu X}{Y_{O_2}} \quad (4)$$

En un proceso fermentativo por lotes la concentración de O.D. y la concentración de biomasa cambian con el tiempo, sin embargo, es posible considerar la situación de estado estable para un tiempo determinado, en la que la demanda bioquímica de oxígeno (OUR) y la velocidad de transferencia de oxígeno (OTR) sean iguales. Bajo estas circunstancias, OTR y OUR son iguales, como se representa en la ecuación (5) (Bailey y Ollis, 1986; Duarte, 1995).

$$K_L a (C^* - C_L) = q_{O_2 \max} X = \frac{\mu X}{Y_{O_2}} \quad (5)$$

A bajas concentraciones celulares, la OUR es baja aún cuando las células pueden estar respirando a su máxima velocidad de demanda específica de oxígeno ($q_{O_2 \max}$); adicionalmente, la concentración de oxígeno en el medio (C_L) se incrementa y se aproxima al valor de saturación C^* . Así, el oxígeno se presenta en una condición no limitante para el crecimiento microbiano. A medida que la concentración de biomasa se incrementa, OUR se incrementa y como consecuencia la concentración de oxígeno disuelto disminuye. A unas condiciones de operación definidas, una alta concentración celular hará que el nivel de O.D. pueda alcanzar la concentración crítica de oxígeno (C_{crit}), cuyo valor depende de las características

fisiológicas del microorganismo (Avignone-Rosa y Arcas, 1992; Nickerson y Bulla, 1992).

A C_{crit} el cultivo aún cuenta con la cantidad de oxígeno demandada por la concentración celular presente. A partir de este valor, un incremento de biomasa ya no dispone del oxígeno que necesita para su normal desarrollo. La C_{crit} se alcanza para una concentración celular (X) presente. La X así obtenida (X_{crit}), constituye la máxima X a la cual, bajo determinadas condiciones de operación, es posible suministrar el oxígeno que requiere el cultivo para su desarrollo sin limitaciones de este nutriente.

La cinética de la biomasa se puede construir a partir de la velocidad específica de crecimiento (μ), factor que sigue un modelo cinético como el de Monodi:

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{K_S + S} \quad (6)$$

donde S es la concentración de sustrato, μ_{\max} es la velocidad específica de crecimiento máxima, dependiente del tipo de microorganismo y K_S es la constante de saturación de sustrato, la cual normalmente oscila entre 1 y 10 mg/l para la gran mayoría de bacterias (Bailey y Ollis, 1986; Duarte, 1995). Así, es posible considerar que siempre que la concentración de sustrato sea mayor que $10K_S$, la célula crece a su máxima velocidad de manera que K_S es muy pequeño en relación con el valor de S y será aproximadamente igual a μ_{\max} .

De manera similar, la demanda específica q_{O_2} sigue una cinética tipo Michaelis-Menten en la que el O.D. es el sustrato; siempre que el nivel de oxígeno disuelto esté arriba de la condición crítica, la célula respira a su máxima velocidad. De ésta manera es posible considerar

despreciable el valor de K_s respecto del nivel de O.D. como sustrato, de manera que $q_{O_2} \gg q_{O_{2max}}$

Bajo estas consideraciones, a partir de la ecuación (5) se obtiene:

$$K_L a (C^* - C_{crit}) = q_{O_{2max}} X_{crit} = \frac{\mu X_{crit}}{Y_{O_2}} \quad (7)$$

La ecuación (7) es el modelo propuesto resultado de este trabajo en el que, a partir de los parámetros conocidos ($q_{O_{2max}}$, $K_L a$ y C_{crit}) es posible determinar analítica y/o gráficamente la concentración de biomasa permisible para un grupo de condiciones de operación como limitantes físicas ($K_L a$) y un grupo de factores limitantes determinados por el microorganismo (C_{crit} , μ , $q_{O_{2max}}$), pudiéndose determinar las condiciones (X_{crit} para una determinada C_{crit}) para las que el desarrollo del cultivo no esté limitado por deficiencias en el suministro de oxígeno.

Esta expresión también puede ser representada esquemáticamente, como se muestra en la figura 1. La gráfica superior de la figura 1, presenta la variación de C_L [g/l] respecto de la OTR [g/l-h] para diferentes valores de $K_L a$ [$l^{-1}h^{-1}$]. La gráfica inferior muestra la OUR [g/l-h], asociada a una X [g/l] atendiendo a sus características fisiológicas (q_{O_2} [gO₂/gcél-h]).

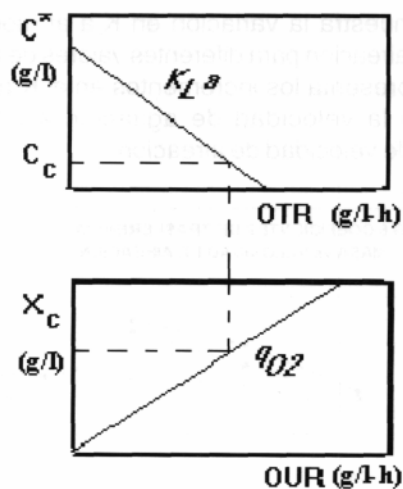


Figura 1. Representación del modelo

Para un determinado valor de $K_L a$ se mantiene una determinada concentración de O.D. que dependiendo de X y de sus características fisiológicas (q_{O_2}) puede llevar la concentración de oxígeno a C_{crit} . La X respectiva constituye la máxima concentración celular a la que es posible suministrar oxígeno eficientemente al cultivo.

La correlación así implementada puede también usarse para otras cepas del género *Bacillus* a partir de la

determinación experimental de μ y siempre que el caldo fermentativo tenga un comportamiento hidrodinámico de carácter newtoniano.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para determinar los parámetros que utiliza el modelo propuesto, se emplearon las siguientes cepas de *Bacillus.thuringiensis*: tres cepas nativas provenientes del cepario del Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional de Colombia, IBUN2.6, IBUN28.1 y IBUN3.3y la cepa HD-1. Las cepas se tomaron de cajas de petri conteniendo medio de cultivo LB en las que se crecieron previamente a 30 °C durante 72 h y se conservaron a 4 °C por un período no mayor a 4 meses (Cerón, 1989). El medio de cultivo usado para todo el trabajo experimental fue el medio (HCO) descrito por Cerón (1989). Este no requiere control de pH. El volumen de inóculo para las diferentes fermentaciones fue 10 % del volumen de operación. Los inóculos se propagaron por 12 h a 30 °C y 200 rpm en agitador rotatorio. (Berdugo y Zamora, 1995). La cuantificación de biomasa se hizo en un espectrofotómetro Perkin-Elmer (Mod 35), a una longitud de onda de 600 nm, previa construcción de una curva patrón que relaciona biomasa (peso seco) con absorbancia.

Para determinar los valores de μ se realizaron fermentaciones en erlenmeyers de 1 litro con un volumen de trabajo de 250 ml, por duplicado, para cada una de las cuatro cepas de interés. Las condiciones de operación fueron: temperatura de 30 °C y velocidad de agitación de 200 rpm hasta alcanzar la fase estacionaria de crecimiento microbiano. Para determinar los diferentes valores de $K_L a$ en la fase de crecimiento exponencial, se desarrollaron cultivos con volumen de operación de 5 litros empleando un fermentador de 7 litros de volumen nominal (Bioflo III, New Brunswick Scientific Co.).

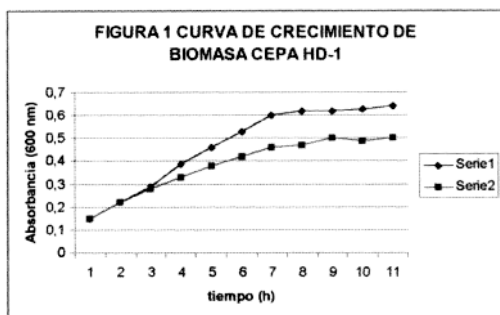
La evaluación experimental de $K_L a$ se hizo a partir del método dinámico, como se describe en Muñoz y Quintero, (1993), Moresi y Patete, (1988) y Van't Riet, (1979). Las condiciones de operación fueron: temperatura de 30 °C, velocidad de aireación y agitación variables según el planeamiento de la experimentación. En este sentido se desarrolló un diseño factorial de múltiples niveles, 2³, como sigue:

- velocidad de aireación: 0.6, 0.8 y 1.0 volúmenes de aire por volumen de medio por minuto (vvm),
- velocidad de agitación: 500, 700 y 800 rpm.

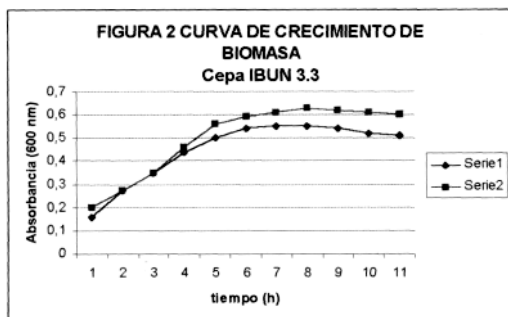
El coeficiente de rendimiento de oxígeno en células (Y_{O_2}) se tomó como 1.47 g de células secas/g de O₂ consumido, valor tomado de la literatura para todas aquellas bacterias que consumen glucosa como fuente de carbono (Bailey y Ollis, 1986). Para la validación del modelo se utilizaron los valores obtenidos por Muñoz y Quintero, (1993).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

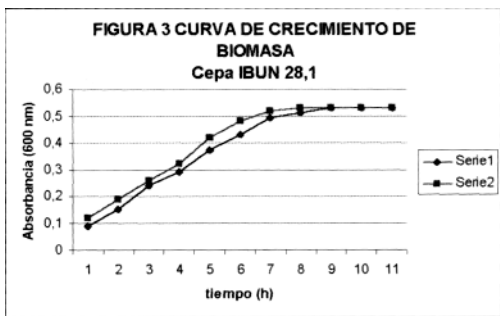
En las figuras 2, 3, 4 y 5 se presentan las curvas de crecimiento de biomasa para las cuatro cepas de interés con sus respectivas réplicas; a partir de estas curvas se determinó la velocidad específica de crecimiento (μ).



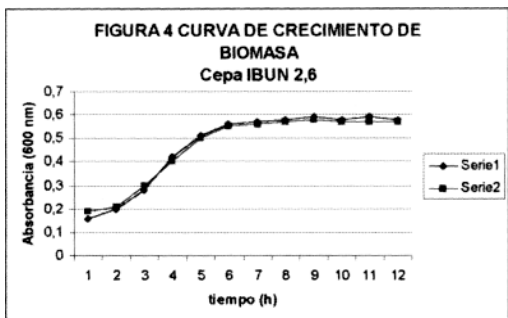
Serie 1: HD-1 Serie 2: HD-1 (replica)



Serie 1: IBUN 3.3 Serie 2: IBUN 3.3 (replica)



Serie 1: IBUN 28.1 Serie 2: IBUN 28.1 (replica)



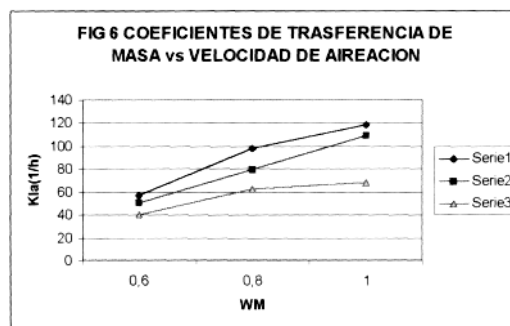
Serie V. IBUN 2.6 Serie 2: IBUN 2.6 (replica)

Los valores obtenidos de estas curvas se presentan en la tabla 2. Los valores de μ así hallados para las cepas nativas son bajos si se compararan con los informados en la literatura para otras cepas de Bt. Para la cepa HD-1, el valor obtenido fue 0.18 h^{-1} ; en tanto que en otro trabajo realizado por el grupo con la misma cepa (Berdugo y Zamora, 1995) y Pearson y Ward (1983) trabajando con la variedad israelensis reportan valores de μ al rededor de 0.19 h^{-1} . La tabla 2 muestra además valores de M_{max} y $q_{02 \text{ m}}$ obtenidos como se indica en la parte teórica.

En la tabla 3 se presentan los valores de $K_L a$ obtenidos a diferentes condiciones de operación según el planeamiento de la experimentación. De los resultados presentados, se observa que, conforme lo cita la literatura, un incremento en la velocidad de agitación y/o aireación conlleva a un aumento en el valor de $K_L a$ asociado. Así, al fijar la velocidad de aireación e incrementar la velocidad de agitación, se obtienen incrementos hasta del 44 % en el valor del $K_L a$.

A su vez, al fijar la velocidad de agitación y modificar la velocidad de aireación, el incremento en el valor de $K_L a$ llega a ser hasta de un 55 %. Esto hace pensar que al volumen de fermentación de 5 litros y bajo las condiciones de operación establecidas se presenta una mayor contribución de la velocidad de aireación a la transferencia de oxígeno, coincidiendo con lo propuesto por Votruba y Sobotka (1977) y Lee y Luks (1983).

La figura 6 muestra la variación en $K_L a$ al modificar la velocidad de aireación para diferentes valores de agitación y la figura 7 presenta los incrementos en el $K_L a$ por una variación en la velocidad de agitación a diferentes condiciones de velocidad de aireación.



Serie 1: 500 RFRM Serie 2: 700 RPM Serie: 800 RPM

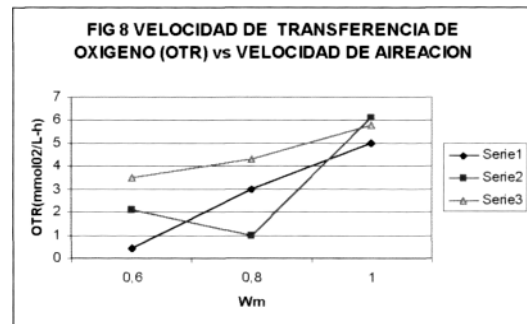
Respecto a la velocidad de transferencia de oxígeno (OTR), la figura 8 muestra estos valores obtenidos a partir de un incremento en la velocidad de aireación a diferentes condiciones de velocidad de agitación. Para el caso, el comportamiento es uniforme, obteniendo una mayor OTR a medida que se aumenta la velocidad de aireación para una velocidad de agitación fija, excepto a 700 rpm y 0.8 wm. En esta fermentación se presentó una alta tendencia

Tabla 2. Parámetros Cinéticos para las Cuatro Cepas.

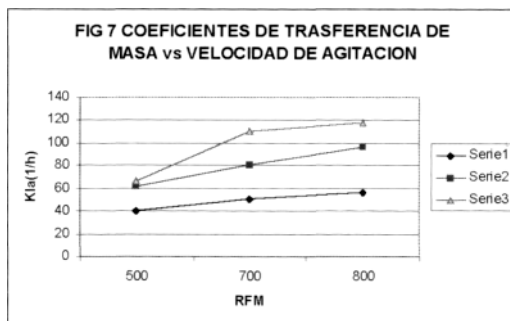
CEPA	μ [h^{-1}]	μ_{max} [h^{-1}]	q_{O_2m} [$g\ O_2/g\ cél-h$]
HD-1	0.18	0.18	0.27
HD-1 réplica	0.12		
IBUN28.1	0.26	0.26	0.51
IBUN28.1 réplica	0.24		
IBUN2.6	0.26	0.27	0.53
IBUN2.6 réplica	0.27		
IBUN3.3	0.21	0.23	0.45
IBUN3.3 réplica	0.23		

Tabla 3. Valores de K_La [h^{-1}] (para Diferentes Condiciones de Aireación y Agitación)

VVM	0.6	0.8	1.0
500	40.7	61.8	66.4
700	48.6	79.0	108.9
800	55.4	96.1	118.2



Serie 1: 500 rpm Serie 2: 700 rpm Serie 3: 800 rpm



Serie 1: 0.6 WM Serie 2: 0.8 WM Serie 3: 1VMM

a formación de espuma que se controló por medio de la adición de antiespumante (metil-silicona emulsionada); la mayor cantidad de antiespumante adicionado pudo contribuir a incrementar la resistencia a la transferencia de oxígeno (Huang y Kintner, 1969; Vardak-Sukan, 1986).

De otra parte, como se observa en la figura 8, a altas velocidades de aireación los incrementos en la velocidad de agitación no contribuyen significativamente a la transferencia de oxígeno. Es así como a 1.0 wm se obtiene prácticamente la misma OTR independientemente de si se agita a 700 u 800 rpm.

Finalmente, la figura 9 muestra la representación esquemática del modelo implementado. La gráfica superior es una representación de la velocidad de transferencia de oxígeno (OTR) [$g/l-h$] contra la concentración de oxígeno disuelto en el medio líquido C_L [g/l] (OTR como abscisa), con K_La como parámetro. A partir de ella es posible determinar la OTR para algún valor dado de C_{crit} y K_La . La parte inferior de la figura 9 es una gráfica de la X_{crit} contra la demanda bioquímica de oxígeno (OUR) usando la demanda bioquímica específica máxima de oxígeno (q_{O2m}) [g oxígeno/ g célula- h], como parámetro. Del tratamiento experimental en el presente trabajo y a partir de la ecuación (4), se dibujan valores típicos de K_La obtenidos al nivel de banco y valores típicos de q_{O2m} para diferentes cepas de Bt calculados como se indica la parte introductoria (ecuaciones 1, 2 y 3).

La OUR como abscisa utiliza la misma escala que la OTR. Así, para un valor de K_La dado y una $C_L = C_{crit}$ (punto 1), es posible determinar la OTR (punto 2) la cual es igual a la OUR en condiciones de estado estable (punto 3), lo que permite hallar X_{crit} para la cepa de interés (punto 4), haciendo uso de la gráfica inferior (punto 5).

La X_{crit} así hallada constituye la máxima concentración celular en [g/l] a la que es posible suministrar

eficientemente oxígeno sin que se presenten deficiencias en su suministro. Un incremento en X implica un ajuste en las condiciones de operación (w m, rpm) que aseguren un aumento en el valor de K_{La} de manera que supla satisfactoriamente la demanda de oxígeno por parte de una nueva concentración de células. De esta manera el cultivo no estará limitado por oxígeno.

con el propósito de determinar K_{La} a dos niveles de operación para las variables de agitación y aireación; como medio de cultivo usaron el medio HCO, el mismo usado en este estudio.

A partir de su experimentación encontraron valores de K_{La} de 20 y 22 h^{-1} a 1 y 2 vvm respectivamente, manteniendo la velocidad de agitación constante en 300 rpm. Bajo estas condiciones, establecieron que sus condiciones de operación estaban cercanas a una condición de limitación en el suministro de oxígeno; adicionalmente, reportan una baja incidencia de la velocidad de aireación sobre la concentración de O.D. comparada con el efecto de la velocidad de agitación. De los datos experimentales para éstas condiciones de operación, la máxima concentración de biomasa a la que es posible suministrar oxígeno disuelto en forma eficiente (X_{crit}) es 0,19 g/l a 2 vvm y 0,18 g/l a 1 vvm. Haciendo uso del modelo y a partir de la cinética para Bt variedad HD-25 por ellos determinada, se obtiene una X_{crit} de 0,13 g/l.

En el mismo trabajo, Muñoz y Quintero (1993) estudiaron condiciones sin limitaciones de oxígeno en cultivos siempre en la fase exponencial de crecimiento. Fijando la agitación en 500 rpm, a 1 vvm hallaron valores de K_{La} de 41 hr^{-1} y obtuvieron una concentración mínima de O.D. del 40% de la condición de saturación para una biomasa de 0,34 g/l. El modelo teórico predice una X_{crit} de 0,27 g/l para una condición de saturación de oxígeno del 10% del valor de saturación. A 2 vvm encuentran un valor de K_{La} de 46 h^{-1} para una concentración mínima de O.D. del 15% del valor de saturación y una biomasa asociada de 0,4 g/l. Del modelo, la máxima biomasa a la cual es posible suministrar oxígeno eficientemente (O.D. > 10% sat.) es 0,43 g/l.

Finalmente, en la tabla 4 es posible observar las diferencias en los valores calculados al comparar los datos experimentales con los valores obtenidos a partir del modelo, específicamente para los casos en que se presenta limitación de oxígeno. El modelo parece ser más predictivo cuando se presenta limitación, en tanto que se obtiene mayor desviación cuando no hay limitación de oxígeno.

CONCLUSIONES

A partir de valores reportados de la literatura se implemento un modelo teórico que parte del conocimiento de la velocidad específica de crecimiento de biomasa de Bt, y permite determinar las condiciones de operación (velocidad de agitación y velocidad de aireación), bajo las cuales el oxígeno no se presenta como limitante para el crecimiento durante un proceso fermentativo con Bt.

El modelo fue validado a partir de valores tomados de la literatura, (Muñoz y Quintero, 1993). Los resultados de esta validación presentan algún grado de confiabilidad

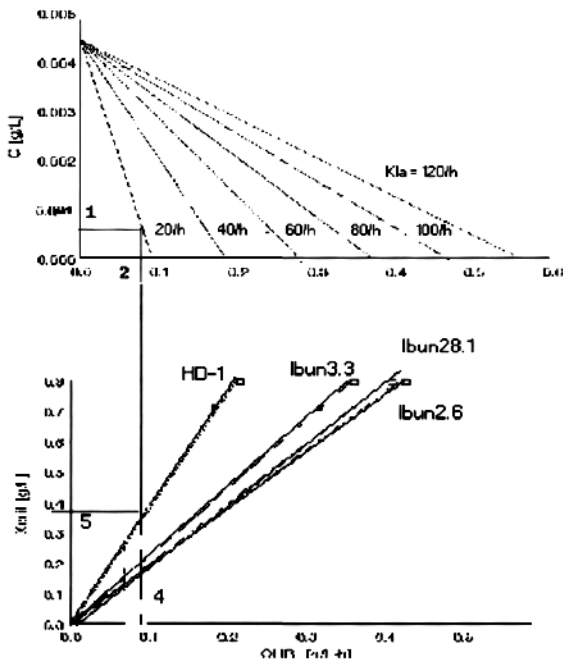


Figura 9. Representación Gráfica del Modelo Implementado

Al nivel de laboratorio y para propósitos de investigación y desarrollo, el modelo tiene gran aplicabilidad en tanto que con base en la experiencia es posible escoger entre varias alternativas de condiciones de operación que el modelo sugiere; a partir del conocimiento de las características cinéticas del microorganismo y de las especificaciones en la composición del medio de cultivo, se estima la máxima concentración celular a obtener, a partir de esta y con ayuda del modelo se tienen diversos valores de K_{La} , todos ellos determinados a niveles de concentración de O.D. cercanos pero nunca menores a C_{crit} . Las condiciones de operación así determinadas constituyen una primera aproximación en el establecimiento de las mejores condiciones de operación del cultivo.

VALIDACIÓN DEL MODELO.

El modelo fue validado a partir de los valores obtenidos por Muñoz y Quintero (1993), quienes realizaron cultivos de Bt variedad HD-25 a 1.5 l de volumen de operación,

Tabla 4. Validación del modelo desarrollado¹

CASO	VOLUMEN (L)	O.D	AGITACIÓN [rpm]	AIREAC [vvm]	K _a [hr ⁻¹]	CONCENT Exper.		, CELULAR De modelo	
						X [g/L][%sat]	O.D. [g/L]	X _{crit} [g/L]	O.D. [%sat]
1	5.0	S* S	500 500	1.0 0.6	66 41	0.70	60	0.98	10
						0.62	45	0.62	10
2	1.5	C** C	300 300	2.0 1.0	22 20	0.19	10	0.13	10
						0.18	10	0.13	10
	1.5	S S	500 500	2.0 1.0	47 41	0.40	15	0.43	10
						0.34	40	0.27	10

C** con limitación de oxígeno
s* sin limitación de oxígeno

¹ Estos datos fueron tomados de Muñoz y Quintero, (1993).

(desviación aproximada del 30 %), si se tiene en cuenta que la experimentación se realizó siguiendo una metodología unificada entre uno y otro estudio; así, los resultados obtenidos a partir de este modelo tienen un aceptable grado de certidumbre, inicialmente al nivel de laboratorio, con las cepas de Bt estudiadas, en las condiciones fisicoquímicas establecidas y con el medio empleado (HCO). De ésta manera el modelo parece ser más predictivo cuando se presenta limitación, en tanto que se obtiene mayor desviación cuando no hay limitación de oxígeno.

Haciendo uso del modelo es posible determinar el nivel de O.D. en una condición de no limitación, para poder estudiar el efecto de de otras variables (pH y composición del medio de cultivo, entre otros) sobre la producción del ingrediente activo asociado al complejo espora-cristal. En este sentido el modelo es útil en el planeamiento de un diseño experimental, desde el punto de vista teórico, de manera que antes de toda experimentación se descarten condiciones de limitación de oxígeno, poco favorables para la síntesis de los metabolitos.

Al estudiar la incidencia de las velocidades de agitación y aireación sobre la velocidad de transferencia de oxígeno (OTR), en cultivos de 5 litros y bajo las condiciones de operación establecidas, fue más notorio el efecto de la velocidad de aireación, generando un mayor incremento en la OTR, por incrementos en su valor a una velocidad de agitación fija, si se compara con el obtenido cuando se fija la velocidad de aireación y se modifica la velocidad de agitación.

El uso del modelo puede hacerse extensivo al estudio de cultivos con otros microorganismos aerobios del género Bacillus, para lo cual se debe tomar en cuenta las recomendaciones en cuanto a las características de transferencia de masa, reología del medio de cultivo y su desviación del comportamiento newtoniano, aporte de la aireación superficial a la transferencia de oxígeno y similitud geométrica en el equipo de fermentación.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue realizado gracias a la financiación de COLCIENCIAS y al respaldo del Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional de Colombia.

BIBLIOGRAFÍA

- Alba S., Humphrey A.E. y Millis S. N. 1973. Biochemical Engineering. 2nd. ed. Academic Press. New York.
- Aronson A.I., Bekman N. 1986. "Bacillus thuringiensis and related insect pathogens". Microbiology Rev. 80: 1-24
- Avignone-Rossa C. y Arcas J. 1992. "B.t. growth, sporulation and d-endotoxine production in oxygen limited and non limited cultures". World Journal of Microbiology. 8: 301-304
- Bailey J.E. y Ollis D.F. 1986. Biochemical Engineering Fundamentals, 2da ed. Ed. McGraw Hill Book Co., New York.
- Bandyopadhyay B., Humphrey A.E. y Taguchi H. 1967. "Dynamic

- measurement of the volumetric oxygen transfer coefficient in fermentation systems". Biotech. Bioeng. 9: 533-544.
- Berdugo C. y Zamora A. 1995. «Estudio preliminar de diseño de un medio de cultivo para la síntesis de Delta-endotoxina». Tesis Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Colombia, Sede Santa Fe de Bogotá.
- Bird R.B., Stewart W.E. 1960. Transport phenomena. 1a. ed. John Wiley and Sons, New York.
- Cerón J., Abarca C. y Quintero R. 1989. ¿Qué son los Bioinsecticidas? Universidad: Ciencia y Tecnología. Universidad

- Autónoma del Estado de Morelos, México, 1:3, 66-70.
- Couch T. y Ross D.A.** 1980. «Production and utilization of *B.thuringiensis*». *Biotech. Bioeng.* 22: 1279-1304
- De Urquijo N.E. 1987. «Producción de *B.thuringiensis* para el control de plagas», CINESTAV, Instituto Politécnico Nacional, México.
- Duarte T. A.** 1995. Introducción a la Ingeniería Bioquímica, 1a. ed. Universidad Nacional Ed., Santafé de Bogotá.
- Fuchs R., Ryu D.Y. y Humphrey A.E.** 1971. «Effect of surface aeration on scale-up procedures for fermentation process». *Ind. Eng. Chem. Process Des. Develop.* 10:1190-1269.
- Goldberg I., Sneh.** 1980. "Optimizaron of a médium for high yield production of spore-crystal preparation of *B.thuringiensis*". *Biotech. Lett.* 2:419-426.
- Holmberg A. Sievanen R.** 1980. "Fermentation of *B.thuringiensis* for exotoxin production". *Biotech. Bioeng.* 22: 1707-1724.
- Huang W.S. y Klintner R.C.** 1969. "Effects of surfactants on mass transfer inside drops". *AIChE Journal.* (15).
- Kargy F. y Moo-Young M.** 1984. Transport phenomena in Bioprocess". *Comprehensive Biotechnology*, Murray Moo-Young ed. Toronto, Canadá.
- Lee Y.H. y Luks.** 1983. «Aereation». *Annual Report in fermentation Processes*, Academic Press, ed. New York. 6:101-147.
- Moresi M. y Patete M.** 1988. "Prediction of K_La in conventional stirred fermenters". *J. Chem. Technology, Biotechnology Convencional.* 42: 197-210.
- Muñoz L. y Quintero J. C.** 1993. «Determinación del K_La en la fermentación con *B.t.*», tesis Ingeniería Química, Universidad Nacional de Colombia Sede Santa Fe de Bogotá.
- Nickerson K.W. y Bulla Jr.** 1992. «Physiology of spore forming bacteria associated with insect». *Applied Microbiology.* 1: 124-128.
- Oldshue J.Y.** 1983. "Mixing in fementation processes". *Annual reports on fermentation processes.*
- Pearson D. y Ward O. P.** 1983. "Effect of culture condition on growth and sporulation of *B.t.* and development of media for production of the protein crystal endotoxin". *Biotech. Lett.* 10: 451-456.
- Sinclair C.G. y Mavltuna F.** 1985. "Graphical method for determination of growth limited by exigen". *Biotechnology Lett.* 2: 69-74.
- Sobotka M. y Prokop A.** 1982. "Review of methods for the measurement of oxygen transfer in microbial systems". *Annual reports on fermentation processes.*
- Van't Rtot K.** 1979. "Review of measuring methods and results in nonviscous gas-liquid mass transfer in stirred vessels". *Ind. Eng. Chem. Process. Des. Dev.* 18: 357-364.
- Vardak-Sukan F.** 1986. "Dynamic of oxygen mass transfer in bioreactor, Part I. Operating variables affecting mass transfer". *Process Biochem.* 20: 181-184.
- Vardak-Sukan F.** 1986. "Dynamic of oxygen mass transfer in bioreactor, Part II. Desing variables". *Process Biochem.* 21: 40-44.
- Votruba J. y Sobotka M.** 1977. «E val u at ion of aeration capacity from cultivation data files: Aptication to large-scale fermentation». *Biotech. Bioeng.* 19: 1553-56.