



RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue establecer un cultivo de *Beta vulgaris* L. en biorreactor, bajo un régimen de lote alimentado (CLA), para la producción de arabinogalactano-proteínas (AGPs). El CLA consideró el uso del control pH-*stat* y sacarosa como la fuente de carbono. El cultivo por lote (CL) de *B. vulgaris* fue realizado para obtener las constantes cinéticas siguientes: concentración celular máxima ($X_{CL}=12.15$ g PS L⁻¹), la velocidad específica de crecimiento (μ) de 0.21 d⁻¹, producción de AGPs_{CL} (67.42 mg L⁻¹), rendimiento de biomasa a sacarosa consumida ($Y_{X/S}$) (0.336 g de células g⁻¹ de sacarosa), rendimiento de AGPs a sacarosa consumida $Y_{AGPs/X}$ (4.92 mg de AGPs g⁻¹ de biomasa) y la productividad de AGPs (Q_{AGPs}) de 0.985 mg L⁻¹ d⁻¹. Un consumo de HCl de 72.13 mL fue necesario para mantener el pH del medio en 5.5 a lo largo del cultivo. Los parámetros $Y_{X/S}$ y $Y_{AGPs/X}$ del CL, la relación entre el HCl alimentado y de la sacarosa residual ($R^2=0.89$) fueron usadas para ensayar diferentes concentraciones de sacarosa (50 a 400 g L⁻¹) usando las ecuaciones del CLA. La concentración de sacarosa de 300 g L⁻¹ fue la condición que predijo la mejor producción de la biomasa (1.64 veces) y de AGPs (1.66 veces). El CLA de *B. vulgaris* en biorreactor, con el control de pH-*stat*, con 300 g de sacarosa L⁻¹ en la corriente de alimentación fue realizado. La producción de X_{CLA} y de AGPs_{CLA} fue de 20.65 g PS L⁻¹ y 143.84 mg L⁻¹ con una μ_{CLA} de 0.55 d⁻¹, el consumo de HCl y sacarosa fue de 48.73 mL. En CLA, se obtuvo un $Y_{AGPs/X}$ de 8.01 mg g⁻¹ y Q_{AGPs} de 2.0 mg L⁻¹ d⁻¹, con un consumo de 46.9 mL de HCl para controlar el pH del medio en 5.5. El CLA alcanzó la fase estacionaria al día 4; pero como la producción de AGPs seguía en aumento. Como consecuencia se continuó el CLA al día 9; los resultados mostraron una disminución de la biomasa del día 4 (11.52 g PS L⁻¹), mientras que la producción de AGPs aumentó hasta 491.46 mg L⁻¹ (7.2 veces en relación al CL). La sacarosa alimentada no fue consumida por las células y esta fue acumulada en el caldo (45 g de sacarosa L⁻¹). Esta condición puede ser un estrés que induce la secreción de AGPs por las células al medio de cultivo. Los resultados de este trabajo usando el CLA son pioneros para el crecimiento de las células de *B. vulgaris* en biorreactor y particularmente para la producción de AGPs. La técnica de CLA mejora la producción de AGPs 7.2 en relación al CL.



ABSTRACT.

The objective of this study was to establish a culture of *Beta vulgaris* L. developing in bioreactor, under fed-batch regime (CLA), for the production of arabinogalactan-proteins (AGPs). CLA regime considered the use of pH-*stat* control and sucrose as carbon source. Batch culture (CL) of *B. vulgaris* was performed, and the next kinetic parameters were obtained: maximal biomass concentration ($X_{CL} = 12.15 \text{ g DW L}^{-1}$), specific growth rate (μ) of 0.21 d^{-1} , AGPs_{CL} production (67.42 mg L^{-1}), biomass yield to sucrose consumed ($Y_{X/S} = 0.336 \text{ g cells g}^{-1}$ of sucrose), AGPs yield to sucrose consumed ($Y_{AGPs/X} = 4.92 \text{ mg AGPs g}^{-1}$ of biomass) and AGPs productivity ($Q_{AGPs} = 0.985 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$). A consume of 72.13 mL of HCl was necessary in order to maintain the pH broth in 5.5 during the kinetic. The parameters obtained from the CL ($Y_{X/S}$ and $Y_{AGPs/X}$), the relation between the HCl feed and sucrose residual ($R^2 = 0.89$) were used to essay different concentrations of sucrose (50 to 400 g L⁻¹) using the equations of CLA. Sucrose concentration of 300 g L⁻¹ was the best condition to improve of biomass (1.64 fold) and AGPs (1.66 fold). The CLA of *B. vulgaris* in bioreactor, with the pH-*stat* control with 300 g sucrose L⁻¹ in the feed stream was conducted. Production X_{CLA} and CLA_{AGPs} was 20.65 g PS L⁻¹ and 143.84 mg L⁻¹ with a μ_{CLA} of 0.55 d^{-1} , the HCl and sucrose consumption was 48.73 mL. Under CLA $Y_{AGPs/X}$ was 8.01 mg g⁻¹ and Q_{AGPs} was 2.0 mg L⁻¹ d⁻¹, 46.9 mL of HCl was necessary to control the pH broth in 5.5. The CLA reached the stationary phase at day 4; however AGPs production presents a trend to increase. In consequence, CLA was continued at day 9; results showed a reduction of biomass concentration ($11.52 \text{ g DW L}^{-1}$), while AGPs production increased to 491.46 mg of AGPs L⁻¹ (7.2 fold to CL). The sucrose fed was not consumed by the cell and it was accumulated in the broth (45 g sucrose L⁻¹). This condition could be an osmotic stress that induces the secretion of AGPs by the cell in the culture medium. Results of this work using the CLA are pioneer with *B. vulgaris* cell growing in bioreactor, and particularly to produce AGPs. The technique of CLA improve AGPs production 7.2 fold up in relation with CL.