



## “EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE NITRÓGENO Y DE LAS CONDICIONES DE CRECIMIENTO EN LA PRODUCCIÓN DE ÁCIDOS GRASOS, EN CULTIVOS DE *T. suecica*”.

Tomás García<sup>1,2</sup>, Magdalena Brito-Bazan<sup>2</sup>, Enrique Galindo<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Ingeniería Bioquímica, Instituto Tecnológico de Celaya, Tecnológico Nacional de México, Apdo.Post.,57, Celaya, Guanajuato 38010, México; <sup>2</sup>Departamento de Ingeniería Celular y Biocatálisis, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Apdo.Post.,510-3, Cuernavaca, Morelos 6225, México. Email: galindo@ibt.unam.mx.

*Palabras clave: Biotecnología de algas; lípidos; nitrógeno.*

**Introducción.** Los ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs) se han reconocido por sus propiedades terapéuticas. Dentro de este grupo se encuentran los omega-3 ( $\omega$ -3), entre los cuales destaca el ácido eicosapentaenoico (EPA, 20:5). Entre los potenciales usos del EPA se encuentran la prevención, control y tratamiento de diversos desórdenes fisiológicos (1). La fuente tradicional de EPA es el aceite de pescado. Sin embargo, la obtención y purificación de EPA presenta problemas por la posible presencia de metales y contaminantes orgánicos (2). Debido a esto y a la creciente demanda, es de interés encontrar fuentes alternativas de este ácido graso. Las microalgas son microorganismos con alto potencial biotecnológico, y debido a su maquinaria enzimática, son los sintetizadores primarios de PUFAs. La limitación nutricional, principalmente por la fuente de nitrógeno, así como el modo de cultivo, han surgido como estrategias para lograr una mayor producción de EPA (3) y para que el proceso sea más competitivo.

El objetivo de este trabajo fue desarrollar cultivos de *T. suecica* bajo diferentes tipos de crecimiento para estudiar el efecto de la concentración de nitrógeno, y de la presencia o ausencia de luz y glucosa sobre los parámetros de crecimiento, la composición macromolecular y sobre el perfil de ácidos grasos.

**Metodología.** Se hicieron cultivos en matraz agitado de 250 ml con la cepa de *T. suecica* CIB63, utilizando medio de cultivo f/2 con agua de mar artificial. En la primera etapa se estudiaron tres concentraciones de  $\text{NaNO}_3$  en condiciones autótrofas (periodos de luz/obscuridad de 16 h/ 8 h, 26 °C, 100 rpm). Las concentraciones fueron  $8.82 \times 10^{-4}$  M (concentración estándar del medio f/2),  $13.23 \times 10^{-4}$  M y  $4.41 \times 10^{-4}$  M. En la segunda etapa, se realizaron cultivos mixotróficos (con fotoperiodo de luz/obscuridad de 16 h/ 8 h) y heterótrofos (sin luz), ambos suplementados con  $5 \text{ g L}^{-1}$  de glucosa. En todos los cultivos se obtuvo la caracterización cinética y la composición bioquímica (proteínas, lípidos y carbohidratos). Se obtuvieron los perfiles de ácidos grasos y se cuantificó la concentración de EPA mediante cromatografía de gases (GC-FID). Ambas etapas fueron comparadas con la producción de EPA en cultivos autótrofos bajo condiciones estándar en medio f/2.

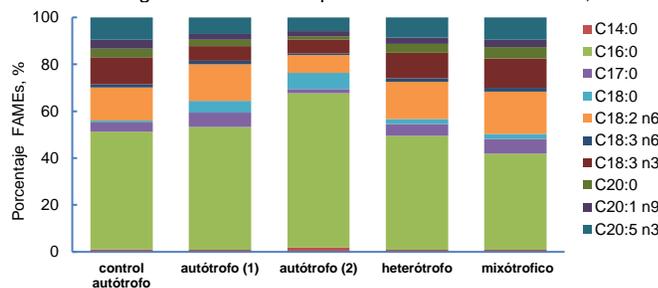
**Resultados.** En la **Tabla 1** se muestra un resumen de los indicadores de producción de lípidos y EPA obtenidos en todas las condiciones experimentadas en este trabajo. Bajo condiciones de autotrofia, la concentración de nitratos en el medio de cultivo afectó principalmente la concentración de biomasa alcanzada y en menor medida la cantidad de lípidos totales y el contenido de EPA. De esta forma, la mayor producción de EPA en condiciones autótrofas se obtuvo con una concentración de nitratos de  $8.82 \times 10^{-4}$  M. Si bien no fue la

condición con la que se obtuvo la mayor concentración de biomasa, los lípidos obtenidos en estos cultivos contenían una mayor cantidad de EPA en comparación con los lípidos obtenidos en los cultivos a alta concentración de nitrógeno (los cuales alcanzaron la mayor cantidad de biomasa). Por otro lado, en los cultivos mixotróficos se produjo la mayor cantidad de lípidos, obteniendo así la mayor producción de EPA, manteniendo constante el porcentaje de EPA en la mezcla total de ácidos grasos (**Figura 1**), respecto a los cultivos autótrofos estándar.

**Tabla 1.** Parámetros obtenidos en cultivos de *T. suecica*, a concentración de nitrógeno 1)  $\text{NaNO}_3$ ,  $8.82 \times 10^{-4}$  M, 2)  $13.23 \times 10^{-4}$  M, 3)  $4.41 \times 10^{-4}$  M.

Condición	Biomasa (mg L <sup>-1</sup> )	Lípidos (mg L <sup>-1</sup> )	% EPA / % PUFAs	Producción EPA (mg L <sup>-1</sup> )
autótrofo <sup>1</sup>	750	223	25	21.09
autótrofo <sup>2</sup>	970	223	22	16.58
autótrofo <sup>3</sup>	590	181	26	10.28
heterótrofo <sup>1</sup>	430	128	22	10.96
mixótrofo <sup>1</sup>	880	317	21	29.67

**Figura 1.** Perfil de ácidos grasos en cultivo autótrofo control a concentración de  $\text{NaNO}_3$   $8.82 \times 10^{-4}$  M, 1) autótrofo  $13.23 \times 10^{-4}$  M, 2) autótrofo  $4.41 \times 10^{-4}$  M, heterótrofo y mixótrofo, evaluados al final del cultivo. En la figura se muestra el promedio de las mediciones, n=3.



### Conclusiones.

- Los cultivos autótrofos, bajo alta concentración de nitrógeno favorecieron el aumento de la concentración celular. Sin embargo, la producción de lípidos obtenida se vio desfavorecida.
- Los cultivos mixotróficos favorecieron la producción de PUFAs. Bajo mixotrofia, la tasa de consumo de nitrato aumentó ligeramente, efecto que favoreció la producción de lípidos en comparación del cultivo autótrofo y heterótrofo.

**Agradecimientos.** Fresenius Kabi GmbH, proyecto P-9687 IBT-UNAM.

### Bibliografía.

1. Sang, M., et al. (2012). *J. Ocean Univ. China*. 11(2):181–186.
2. Bergé, J. P., & Barnathan, G. (2005). *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.* 96: 49–125.
3. Zhang, Q., & Hu, G. (2011). *Chin. J. Oceanol. Limnol.* 29(4):739–745.

