

ANÁLISIS RESPIROMÉTRICO Y DE LA PRODUCCIÓN DE ALGINATO DE CEPAS MUTANTES DE *Azotobacter vinelandii* CULTIVADAS EN MATRACES AGITADOS

Tania Castillo, Diego Ramos, Carlos F. Peña. Departamento de Ingeniería Celular y Biocatálisis, Instituto de Biotecnología. UNAM. Cuernavaca, Mor. 62210 México.
tmarenco@ibt.unam.mx

Palabras clave: Cepas mutantes, *Azotobacter vinelandii*, Alginato, Peso molecular

Introducción. El alginato es un polisacárido conformado por el ácido manurónico y su epímero el ácido gulurónico. Este polímero puede emplearse en diversas industrias como viscosificante o gelificante y estas propiedades son dependientes de la composición química del polímero, específicamente de su peso molecular [1]. Entre los organismos productores de alginato se encuentra *Azotobacter vinelandii*. En este microorganismo la producción y el peso molecular (PMP) del alginato sintetizado, se pueden manipular por los cambios en la disponibilidad de oxígeno, y es bajo condiciones de limitación de oxígeno que se favorece la producción de alginato de alto peso molecular [1]. Además de las condiciones de cultivo, se ha propuesto el diseño de cepas modificadas genéticamente para incrementar la producción de alginato y su peso molecular. El objetivo de este trabajo fue determinar los parámetros respirométricos y la producción de alginato en dos cepas de *A. vinelandii* modificadas genéticamente en cultivos limitados por oxígeno.

Metodología. Se realizó la caracterización de las cepas sobreproductoras de alginato OPAIgU+ [2] y GG9 [3] en matraces agitados de 250 mL bajo dos velocidades de transferencia de oxígeno máxima (VTO_{max}), de alta VTO ($\approx 5-7 \text{ mmol L}^{-1} \text{ h}^{-1}$) y de baja VTO ($\approx 2 \text{ mmol L}^{-1} \text{ h}^{-1}$). En estos cultivos se monitoreo la evolución de la VTO en el equipo respirométrico (RAMOS) [1,2], así como la cuantificación de biomasa total y alginato por peso seco. Adicionalmente, se caracterizó la reología de los caldos de cultivo y se evaluó el PMP del alginato por HPLC [1].

Resultados. En la condición de alta VTO (Fig. 1a), la cepa OPAIgU+ presentó dos VTO_{max}, sugiriendo un crecimiento diaúxico. En contraste, en la condición de baja VTO (Fig. 1b) las dos cepas presentaron un perfil característico de los cultivos limitados por oxígeno, con una VTO_{max} de $2 \text{ mmol L}^{-1} \text{ h}^{-1}$.

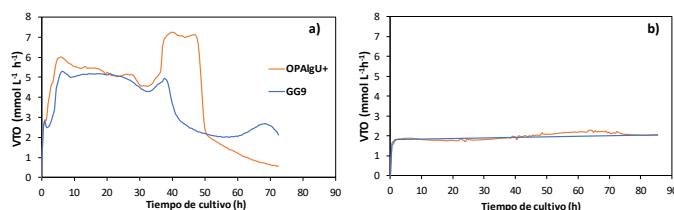


Fig. 1. Evolución de la VTO en los cultivos desarrollados a alta (a) y baja VTO (b)

La mayor concentración de alginato se alcanzó en los cultivos de la cepa OPAIgU+ desarrollados en la condición de baja VTO, en contraste, la menor concentración del polímero se obtuvo en los cultivos de la cepa GG9 en la condición de baja VTO (Tabla 1).

Para ambas cepas, el rendimiento de alginato con respecto a la biomasa ($Y_{Alg/X}$) fue mayor en la condición de baja transferencia.

Tabla 1. Producción de alginato en las cepas OPAIgU+ y GG9 a diferentes VTOs.

Cepa	VTO _{max} (mmol L ⁻¹ h ⁻¹)	$Y_{Alg/X}$ (g g ⁻¹)	Alg _{max} (g L ⁻¹)
OPAIgU+	2.2	1.33	4.5 ± 1.2
	7.2	0.82	3.6 ± 0.2
GG9	2	0.91	3.3 ± 0.1
	5.5	0.64	4.2 ± 0.7

Los valores máximos de PMP del alginato sintetizado por ambas cepas en la condición de alta VTO fueron 4 veces más altos al compararse, con el PMP que se obtuvo en los cultivos desarrollados a una baja VTO (Fig. 2) y aún superiores a los que se habían reportado en cultivos de la cepa silvestre ATCC9046 [1]. El comportamiento del PMP del alginato en la condición de baja transferencia es opuesto al reportado en la cepa ATCC9046, ya que, en cultivos de esta cepa la disminución de la VTO_{max} a valores cercanos a $2 \text{ mmol L}^{-1} \text{ h}^{-1}$, tienen un impacto positivo en el PMP del alginato [2].

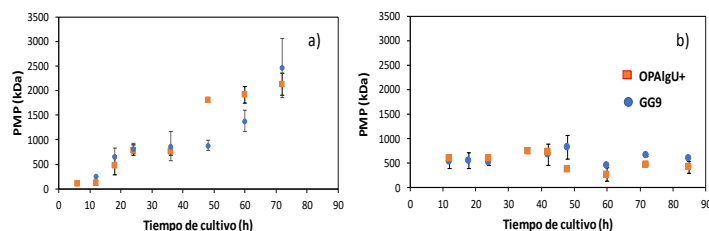


Fig. 2. Cinéticas de evolución de peso molecular en los cultivos de las cepas OPAIgU+ y GG9 desarrollados a alta (a) y baja VTO (b).

Conclusiones. En las cepas mutantes de *A. vinelandii* la disminución de la VTO afecta positivamente los rendimientos $Y_{Alg/X}$, pero el PMP promedio del alginato disminuye bajo estas condiciones de cultivo, lo que sugiere que, en la condición de baja VTO, el proceso de polimerización se ve impactado negativamente.

Agradecimientos. Proyecto Bilateral México-Alemania CONACYT- FONCICYT (277600).

Bibliografía.

- Gómez-Pazarín K., Flores C., Castillo T., Büchs J., Galindo E., Peña C., 2015, *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 91: 1485-1492.
- Castillo T., López I., Flores C., Segura D., García A., E., Peña C. 2018, *J. Appl. Microbiol.* 125(1): 181-189.
- Ahumada-Manuel C. L., Guzmán J., Peña C., Quiroz-Rocha E., Espín G., Núñez C., 2017, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 101:1521-1534.