

PRODUCCIÓN DE ALGINATO EN UN CULTIVO POR ETAPAS MEDIANTE UNA CEPA MUTANTE DE *Azotobacter vinelandii* INCAPAZ DE SINTETIZAR POLI- β -HIDROXIBUTIRATO

Miguel Mejía, Enrique Galindo y Carlos Peña

Departamento de Ingeniería Celular y Biocatálisis, Instituto de Biotecnología, UNAM Apdo. Post. 510-3, Cuernavaca, 62210 Morelos, MÉXICO Fax: (777) 317 23 88, e-mail: miguelm@ibt.unam.mx.

Palabras clave: *alginate*, *Azotobacter*, *cultivo por etapas*, PHB, mutante.

Introducción. *Azotobacter vinelandii* produce dos polímeros de interés comercial: el alginato y el poli- β -hidroxibutirato (PHB). Por tal razón, cuando se busca incrementar la producción de alginato, la síntesis de PHB constituye un derroche del sustrato. Mediante el uso de una cepa modificada genéticamente se ha logrado mejorar el rendimiento de la síntesis de alginato por unidad celular. Sin embargo, el crecimiento de esta cepa en cultivo sumergido fue inferior cuando se comparó con el alcanzado por la cepa silvestre (1).

El objetivo del presente estudio fue implementar una estrategia de fermentación por etapas con la finalidad de incrementar la producción de alginato, empleando una cepa mutante de *A. vinelandii* incapaz de sintetizar PHB.

Metodología. La cepa mutante AT6 (la cual lleva una mutación en el operón *phbBAC* que bloquea completamente la síntesis de PHB) se creció en fermentador con un volumen de trabajo de 2 L de medio Burk modificado a 700 rpm, 29°C y un pH de 7.2. Durante la primera etapa, la cepa AT6 se cultivó a una TOD del 10 % con la finalidad de generar una alta densidad celular. En una segunda etapa, el cultivo fue limitado por oxígeno, se disminuyó la agitación a 300 rpm y se alimentó una solución de sacarosa a una alta concentración para incrementar la producción de alginato. Bajo las mismas condiciones se creció la cepa silvestre ATCC9046, la cual se usó como referencia. Se determinó la concentración de biomasa, alginato, sacarosa, PHB y peso molecular del alginato de acuerdo a trabajos previos (2).

Resultados y discusión. Durante la primera etapa del cultivo se controló la TOD al 10 %. Bajo estas condiciones se promovió el crecimiento de la cepa AT6, alcanzando una producción de biomasa de 7.5 g/L después de 18 h de cultivo (Fig. 1b). Durante la segunda etapa, la μ disminuyó debido a la limitación de oxígeno impuesta en el cultivo. La concentración de alginato alcanzada con la mutante AT6 fue de 9.5 g/L, dos veces más que lo obtenido con la cepa silvestre (Fig. 1 d) y la mayor reportada hasta ahora en la literatura. La concentración de PHB sintetizado por la cepa silvestre, es similar a la concentración de alginato adicional que se logra empleando la cepa AT6, lo cual indica que la fuente de carbono es canalizada hacia la producción de alginato. Se observan diferencias importantes en el peso

molecular (PM) de los alginatos sintetizados por ambas cepas (Fig. 1e, f). Este efecto posiblemente pueda estar relacionado a las diferencias en la velocidad de crecimiento durante la segunda etapa del cultivo.

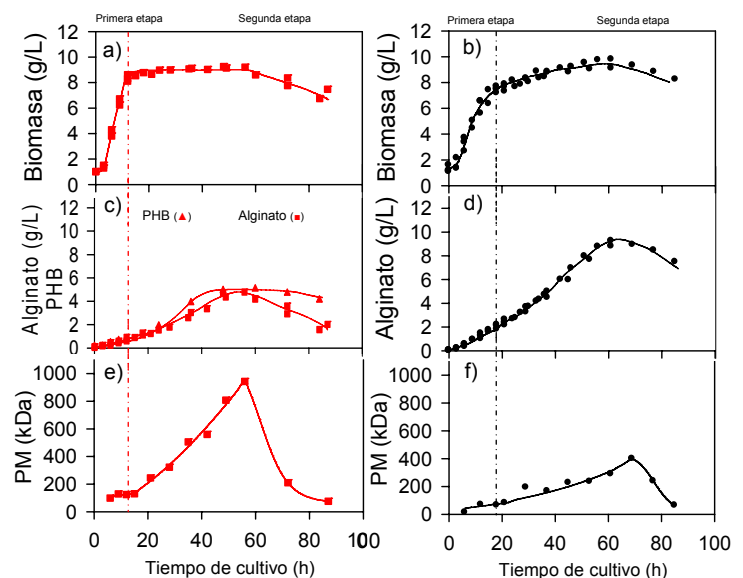


Fig. 1. Cultivo comparativo de *A. vinelandii* ATCC 9046 (■) y AT6 (●) crecidas en un proceso por etapas. Crecimiento celular (a, b); producción de alginato (c, d); peso molecular del alginato (e, f).

Conclusiones. El cultivo en un sistema de fermentación por etapas con la mutante AT6 de *A. vinelandii* permitió mejorar la producción volumétrica de alginato. Sin embargo, el peso molecular del alginato sintetizado por la mutante fue menor al que se obtiene con la cepa silvestre.

Agradecimiento. Apoyo financiero de DGAPA/UNAM (IN230407).

Bibliografía.

- Segura, D., Guzmán, J., Espín, G. (2003). *Azotobacter vinelandii* mutants that overproduce poly- β -hydroxybutyrate or alginate. *Appl Microbiol Biotechnol.* 63 (2): 159-163.
- Peña, C., Trujillo-Roldán, M., Galindo, E. (2000). Influence of dissolved oxygen tension and agitation speed on alginate production and its molecular weight in cultures of *Azotobacter vinelandii*. *Enzyme Microb. Technol.* 27 (6): 390-398.