



Efecto del ácido glutámico en la producción de astaxantina en *Xanthophyllomyces dendrorhous*.

Odilia Pérez Avalos¹, Lina María Castelblanco Matiz¹, Eliseo Cristiani Urbina² y Teresa Ponce Noyola¹.

1 Departamento de Biotecnología y Bioingeniería Cinvestav-IPN; Av. IPN 2508, col. San Pedro Zacatenco México, D.F. cp. 07360; 2 Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Prolongación de Carpio y Plan de Ayala s/n cp 11340. tponce@cinvestav.mx

Palabras clave: β -caroteno, astaxantina, glutamato deshidrogenasa (GDH; EC 1.4.1.2-4).

Introducción. *Xanthophyllomyces dendrorhous* produce pigmentos como β -caroteno y astaxantina. Este último es un carotenoide rojo (3,3'-dihidroxi- β -caroteno-4,4'-diona) (C₄₀H₅₂O₄), que tiene más alto poder antioxidante que el β -caroteno y el α -tocoferol (1), está ampliamente distribuido en peces, aves y crustáceos. Se ha usado en la industria acuícola (2), y tiene un potencial comercial en la industria farmacéutica y alimentaria (3). Se ha reportado que el metabolismo primario repercute en la producción de astaxantina (4). En este trabajo se evaluó el efecto del ácido glutámico como un metabolito que puede influir en el metabolismo primario de *X. dendrorhous* (Cs) y su mutante R e inducir la producción de astaxantina.

Metodología. *Xanthophyllomyces dendrorhous* (Cs) y su mutante R se crecieron en medio YM que contenía: glucosa 10 g/L, extracto de levadura 3 g/L, extracto de malta 3 g/L, bacto peptona 5 g/L, agua destilada 1 L. El inóculo se creció en un matraz de 250 ml conteniendo 50 ml de medio YM, 10% de inóculo. Se incubó a 200 rpm, 20°C por 48 h. La producción de pigmentos e inducción se realizó en las condiciones anteriormente mencionadas. A las 20 h de edad del cultivo, se adicionó 4 mg/ml de ácido glutámico (ag). Se tomaron muestras a las 24 h para cuantificar la actividad catalítica de la glutamato deshidrogenasa (GDH) y a las 72 h para cuantificar pigmentos. Se realizó la extracción de carotenos (5). Se cuantificó por HPLC-DAD, usando fase reversa, una columna All sphere OSD-1 (C18) y gradiente. Fase móvil (A) acetonitrilo:metanol:Tris-HCl 0.1 M pH 8 (72:8:3). Fase móvil (B) Metanol:hexano (40:10). Flujo 2 ml/min, 474 nm. La glucosa se cuantificó por HPLC, columna Hi-Plex H (300X7.7mm). Se determinó la actividad catalítica intracelular de la GDH dependiente de NADH (6).

Resultados. El consumo total de glucosa en la cepa R de *X. dendrorhous* ocurrió a las 20 h de cultivo y a las 48 h en la cepa silvestre Cs (Fig. 1). A las 20 h de edad del cultivo se realizó la inducción de la síntesis de astaxantina adicionando ácido glutámico a ambas cepas; R/ag (mutante con aminoácido) y Cs/ag (cepa silvestre con aminoácido), los controles sin aminoácidos son R y Cs. La biosíntesis de astaxantina fue evaluada a las 72 h de edad del cultivo en todos los casos (Tabla 1). La cepa R/ag produjo 35% más astaxantina con respecto a su control R. Mientras que la cepa silvestre Cs/ag produjo

19% más con respecto a Cs (Tabla 1). El glutámico es de lento metabolismo, incursiona en el metabolismo primario, proporcionando una fuente de nitrógeno mínima para el mantenimiento de la célula. La asimilación de nitrógeno e intermediarios del ciclo de los ácidos tricarbónicos (TCA) intervienen en la regulación de la biosíntesis de carotenos (7). La actividad de la NADH-GDH, fue más alta en ambas cepas donde se adicionó el aminoácido. El incremento fue de 24% en R/ag y de 10% en Cs/ag con respecto a los controles R y Cs respectivamente (Tabla 1). La presencia de NADH puede intervenir como donador de electrones en el citoplasma donde se sintetizan los pigmentos como el β -caroteno y los intermediarios de la biosíntesis de astaxantina.

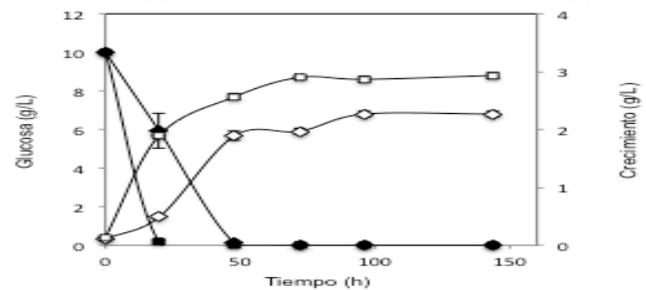


Fig. 1. Cinética de crecimiento (símbolos vacíos) y consumo de sustrato (símbolos rellenos) de *Xanthophyllomyces dendrorhous* Cs (diamante) y mutante R (cuadrados).

Tabla 1. Síntesis de astaxantina de *Xanthophyllomyces dendrorhous* inducida con ácido glutámico.

Cepa	Crecimiento (g/L)	Astaxantina (μ g/g peso seco)(72h)	NADH-GDH (nmol/ml* min)(24h)	β -caroteno (μ g/g peso seco)(72h)
Cs	2.8	320	152	220
Cs/ag	2.6	382	168	195
R	2.7	482	158	0
R/ag	2.9	654	197	0

Conclusiones. La síntesis de astaxantina por *Xanthophyllomyces dendrorhous* y su mutante R es favorecida por el ácido glutámico.

Bibliografía.

1. Miki W (1991) *Pure Appl. Chem.* 63:141-146.
2. Beneman, J.R (1992) *J. Appl. Phycol.* 4:233-245.
3. Hussein, G. et al (2006) *J. Nat. Prod.* 69:443-444.
4. Barbachano-Torres A. et al (2014) *Arch Microbiol.* 196:411-421
5. Sedmak J.J et al (1990) *Biotechnol Tech* 4:107-112.
6. Segel I.H (1968) *Biochemical calculations.* John Wiley & Sons.
7. An G.H (2001) *Biotechnol Lett* 23:1005-1009