



## PRODUCCIÓN DE POLI- $\beta$ -HIDROXIBUTIRATO (PHB) EN CULTIVOS LOTE ALIMENTADOS, NO LIMITADOS POR OXIGENO, UTILIZANDO *Azotobacter vinelandii* OPNA

Ehus Sanguino-Teyer<sup>1</sup>, Daniel Segura<sup>2</sup>, Enrique Galindo<sup>1</sup> y Carlos Peña<sup>1</sup>, Departamentos de <sup>1</sup>Ingeniería Celular y Biotecnología y <sup>2</sup>Microbiología Molecular, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Cuernavaca, Morelos, 62210, [esanguit@ibt.unam.mx](mailto:esanguit@ibt.unam.mx)

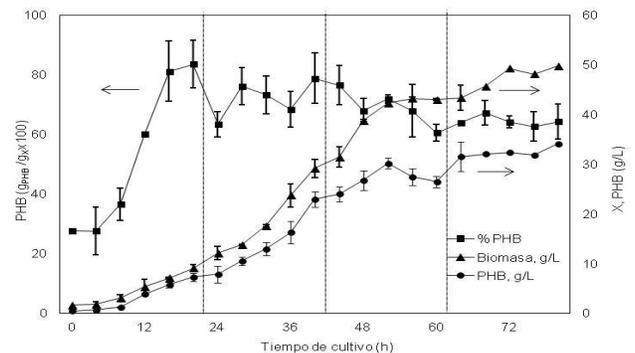
**Palabras clave:** PHB, *Azotobacter vinelandii*, cultivo alimentado.

**Introducción.** El poli- $\beta$ -hidroxibutirato (PHB) es un polímero sintetizado por una gran variedad de bacterias, con propiedades similares al polietileno y polipropileno, con la ventaja de ser biodegradable y biocompatible. Una de las fuentes de producción de este polímero son las bacterias modificadas genéticamente de *Azotobacter vinelandii*, que pueden acumular hasta un 80 % de PHB por peso seco celular (1). Estudios previos han demostrado que mediante el cultivo de la cepa mutante *A. vinelandii* OPNA en sistemas alimentados, es posible alcanzar una alta concentración de PHB (2). Sin embargo, la complejidad del régimen de alimentación y el control de oxígeno (por mezcla de gases), hacen poco viable el escalamiento de este proceso.

El objetivo de este trabajo fue diseñar una estrategia de fermentación, basada en el cultivo con alimentación intermitente y el control de oxígeno por agitación, para la producción de PHB, con un alto rendimiento, utilizando la cepa *A. vinelandii* OPNA.

**Metodología.** Se usó la cepa OPNA, la cual es una mutante que no produce alginato y tiene suprimidos dos sistemas de regulación negativa de la síntesis de PHB (2). Se llevaron a cabo cultivos con alimentación intermitente de sacarosa y extracto de levadura, con una relación carbono-nitrógeno (C/N) de 14. Se manipuló la velocidad de agitación para mantener la tensión de oxígeno disuelto (TOD) por arriba de 4 %, utilizando aire con un flujo de 1 vvm, el pH se controló a 7.2 y la temperatura a 29°C. Las técnicas analíticas para la cuantificación de biomasa y PHB han sido reportadas previamente (2).

**Resultados.** En la Figura 1 se presenta la cinética de crecimiento bacteriano, el porcentaje de acumulación y la concentración de PHB en un cultivo con tres pulsos de alimentación de sacarosa y extracto de levadura, realizados a las 22, 42 y 62 h. Durante todo el cultivo, la TOD se mantuvo por arriba de 4 %, mediante la manipulación de la agitación (en el rango de 500 a 700 rpm), por lo que el crecimiento de la cepa no estuvo limitado por oxígeno. Lo anterior representa una ventaja operacional para este tipo de procesos, ya que se sabe que las cepas de *A. vinelandii* exhiben una muy alta tasa de respiración (3), por lo que usualmente se requiere de enriquecer con oxígeno el aire que se alimenta al fermentador.



**Fig. 1.** Biomasa (X) y acumulación y producción volumétrica de PHB. Las líneas verticales discontinuas indican el momento del pulso de sacarosa y extracto de levadura.

En la misma figura se observa como, después de las 72 h de cultivo, se alcanza una alta concentración de biomasa ( $49 \text{ g L}^{-1}$ ), demostrando que la estrategia desarrollada favorece el crecimiento celular y no afecta negativamente la acumulación de PHB, ya que este se mantiene en un valor entre 60 - 80% durante prácticamente todo el cultivo. Como resultado de lo anterior, se alcanza una producción volumétrica cercana a  $35 \text{ g L}^{-1}$ , con una productividad promedio de  $0.5 \text{ g L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ . La concentración de PHB es una de la más altas reportadas para cepas de *A. vinelandii* (3); sin embargo, la productividad volumétrica global del proceso aún está por debajo de los logrados por otros sistemas y microorganismos (3).

**Conclusiones.** Se desarrolló una estrategia de fermentación, basada en un sistema de alimentación intermitente en un cultivo alimentado, con control del oxígeno por agitación, mediante el cual fue posible alcanzar una alta densidad celular y alta concentración de PHB, utilizando *A. vinelandii* OPNA...

**Agradecimiento.** Proyecto financiado por PAPIIT-UNAM-(100513) y apoyo de beca CONACYT (443427).

### Bibliografía.

- Martínez, P., Guzmán, J., Espín, G. (1997). *Biotechnol Lett.* 19: 909-912.
- García, A., Segura, D., Espín, G., Galindo, E., Castillo, T., Peña, C. (2014). *Biochem Eng J.* 82: 117-123.
- Peña, C., Castillo, T., García, A., Millán, M., Segura, D. (2014). *Microbial Biotechnol.* 7: 278-293.