

## ESTUDIO DE LA ACETILACIÓN DEL ALGINATO PRODUCIDO POR LA CEPA MUTANTE AT12 DE Azotobacter vinelandii

<u>Alma Jiménez</u><sup>1</sup>, Daniel Segura<sup>2</sup>, Tania Castillo<sup>3</sup>, Enrique Galindo<sup>1</sup>, Carlos Peña<sup>1</sup>. Depto. de Ingeniería Celular y Biocatálisis y <sup>2</sup>Depto. de Microbiología Molecular. Instituto de Biotecnología-UNAM. Centro de Investigaciones en Biotecnología. UAEM. Cuernavaca, Morelos México. e-mail: <u>alucero@ibt.unam.mx</u>.

Palabras clave: Azotobacter vinelandii, acetilación del alginato, PHB.

Introducción. El alginato es un polisacárido con la capacidad de modificar la reología de los sistemas acuosos y, por esta razón se utiliza como agente espesante v/o gelificante para distintas aplicaciones en la industria. El alginato bacteriano tiene la propiedad de ser acetilado, lo que le otorga características únicas de viscosidad v gelificación. Estudios recientes indican que en A. vinelandii, el proceso de acetilación del alginato podría estar afectado por la producción del polímero intracelular polihidroxibutirato (PHB), debido a que ambos procesos compiten por el acetil-CoA como principal precursor (1,2). Por lo anterior, es relevante estudiar en qué medida el flujo de acetil-CoA hacia la síntesis de PHB, afecta la acetilación del alginato. El presente trabajo tuvo como objetivo estudiar el grado de acetilación del alginato producido por una cepa de A. vinelandii no productora de PHB.

**Metodología**. Se utilizaron dos cepas de *A. vinelandii;* ATCC9046 (como control) y AT12, como cepa no productora de PHB (3). El estudio se desarrolló por triplicado en cultivos lote, en un biorreactor Applikon con 2 impulsores tipo Rushton y a 2 L de vol. de operación. Se controló la TOD a 1 %, 29°C, 300 rpm y bajo condiciones de fijación de nitrógeno. Para cada cultivo, se analizó el grado de acetilación de los alginatos, la producción de PHB, los rendimientos y el consumo específico de oxígeno de ambas cepas, de acuerdo a la metodología previamente descrita (2,4).

**Resultados**. Bajo las condiciones de estudio, se observó que no existen diferencias significativas en el crecimiento bacteriano y el consumo de sustrato, entre ambas cepas. Sin embargo, se encontró que los rendimientos de producción de alginato con base en proteína  $(Y_{p/x})$ , fueron cinco veces mayores para la cepa no productora de PHB, con respecto al control  $(1.89\pm0.2\ y\ 0.38\pm0.01\ g_{alg}/g_{prot}$  respectivamente; figura 1). La eficiencia en la producción de alginato en cepas no productoras de PHB ha sido previamente reportada y está relacionada con la distribución del carbono. Aparentemente el carbono que no se emplea en la síntesis de PHB se desvía hacia la producción de alginato (3).

Como se observa en la figura 2a, no se encontraron diferencias en el grado de acetilación de los alginatos producidos por ambas cepas; sin embargo, se observa que el consumo específico de oxígeno fue 62% mayor para la cepa AT12, que para el control (ATCC9046) (figura 2b).

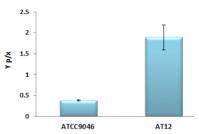


Figura 1. Rendimientos de producción de alginato con base en proteína, de las cepas ATCC9046 y AT12 de *A. vinelandii*.

Estos resultados parecen indicar que en la cepa AT12 el metabolismo respiratorio es más activo y que la distribución de acetil-CoA, metabolito precursor de la acetilación del alginato, la síntesis de PHB y del ciclo de los ácidos tricarboxílicos, se dirige principalmente a este último, favoreciendo el metabolismo respiratorio y no el proceso de acetilación.

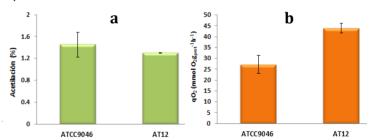


Figura 2. a) Grado de acetilación de alginato y b) Consumo específico de oxígeno de las cepas ATCC9046 y AT12 de *A. vinelandii.* 

Conclusiones. El bloqueo de la síntesis de PHB en la cepa AT12 no influye en el grado de acetilación del alginato. Sin embargo, impacta positivamente en el consumo específico de oxígeno, probablemente debido a un flujo mayor de acetil-CoA hacia el metabolismo respiratorio.

**Agradecimiento**. Apoyo financiero de PAPIIT-UNAM T-100513 y beca CONACyT (131851).

## Bibliografía.

- 1. Franklin MJ, Douthit SA, McClure MA. (2004). *J Bacteriol.* 186 (14):4759–73.
- 2. Ćastillo T., Galindo E., Peña C.F. (2013). *J Ind Microbiol Biotechnol.* 40 (7):715-23
- 3. Segura D., Guzmán J., Espín G. (2013). *Appl Microbiol Biotechnol.* 63 (2): 159-163.
- 4. Castillo T., Heinzle E., Peifer S., Schneider K., Peña C.F. (2013). *Process Biochem.* 48 (7):995-1003.