

EL PAPEL DE LA ALGINASA Y DEL OXÍGENO DISUELTO EN LA POLIMERIZACIÓN DEL ALGINATO POR *Azotobacter vinelandii*

Mauricio A. Trujillo-Roldán¹, Soledad Moreno², Guadalupe Espín² y Enrique Galindo¹
Departamentos de Ingeniería Celular y Biocatálisis¹ y de Microbiología Molecular²

Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México

Apdo. Postal 510-3, Cuernavaca 62250, Morelos, MEXICO

Fax: (777) 3172388, e-mail: maurotru@ibt.unam.mx

Palabras clave: *alginate*, *Azotobacter vinelandii*, *peso molecular*

Introducción. Dos pasos claves en la biosíntesis del alginato por *A. vinelandii* son la polimerización y la depolimerización. En la primera hay al menos cuatro proteínas involucradas (1) constituyendo el complejo “polimerasa” y posteriormente la depolimerización es llevada a cabo por una alginasa (1). Además, la evolución del peso molecular promedio (PMP) del alginato está estrechamente relacionado con la tensión de oxígeno disuelto (TOD) (2). El objetivo del presente trabajo fue establecer los papeles que juegan -en la biosíntesis del alginato- el complejo “polimerasa” y la alginasa, bajo diferentes condiciones de oxígeno disuelto constante.

Metodología. Los cultivos se llevaron a cabo en lote en un fermentador de 1.0 L a 1, 3 y 5 % de TOD constante y a 700 rpm, utilizando la cepa silvestre (ATCC-9046) y la mutante incapaz de producir alginasas SML2 (1). Con técnicas gravimétricas se midió la concentración de alginato (2). Los pesos moleculares (PM) se cuantificaron por cromatografía de filtración en gel (2), en un equipo de HPLC. La actividad alginasa por un método espectrofotométrico (1). Para evitar la presencia del alginato y la alginasa pre-sintetizados, los cultivos fueron realizados usando células lavadas como inóculo (3).

Resultados y Discusión. La fig. 1 presenta las distribuciones del PM del alginato producido por ambas cepas de *A. vinelandii*, en cultivos a 3 % de TOD. Con la cepa mutante (fig 1.a) se obtuvo una única familia de alginatos de alto PMP (985 KDa). Al utilizar la cepa silvestre (fig 1.b), se observó también la producción de una familia bien definida de alginatos de alto PMP (1250 KDa). Un comportamiento similar fue observado a 1 y 5 % de TOD: con la cepa SML2, se obtuvieron familias de alginatos con PMP de 150 y 388 KDa y con la cepa silvestre se obtuvieron familias de 370 y 350 KDa.

Al fin de la fase exponencial de crecimiento, en los cultivos llevados a cabo con la cepa silvestre bajo diferentes condiciones de TOD, se observó una caída en el PMP del alginato. Esta caída es función de la actividad alginasa y la concentración de alginato (fig. 2). La depolimerización del alginato es observada como un desplazamiento de la distribución de pesos moleculares a la derecha (fig. 1.b, 25 h). Al parecer, la actividad alginasa es la única que determina la caída en el PMP del alginato y es máxima al final de la fase exponencial de crecimiento (datos no presentados).

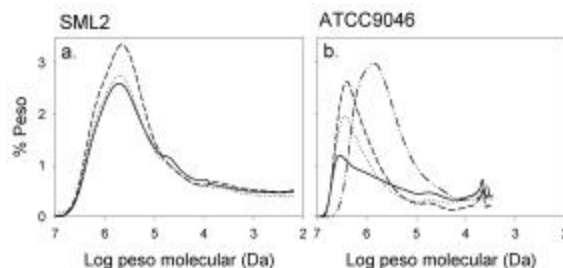


Fig. 1. Distribuciones del PM del alginato producido por *A. vinelandii* SML2 (a): (?) 7 h, (??) 13 h, (- -) 16 h. y ATCC9046 (b): (?) 6 h, (??) 10 h, (- -) 16 h, (? ?) 25 h. Cultivos a 3 % de TOD.

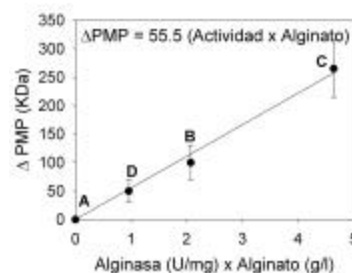


Fig. 2. Relación entre la caída del PMP, la actividad alginasa y la concentración final del alginato. Cultivos de *A. vinelandii* SML2 (A) y cultivos de ATCC9046 a diferentes TOD: B, 1%; C, 3% y D, 5%.

Conclusiones. La polimerización del alginato se lleva a cabo fabricando familias de polímero del mismo peso molecular. Cuando la alginasa está presente, su papel se restringe a un proceso de post-polimerización. Ambos procesos (polimerización y depolimerización) son altamente dependientes de la TOD.

Agradecimientos. Se agradece el apoyo financiero de la DGAPA-UNAM (proyecto 218201). M.A.T.R. agradece a DGEP-UNAM y a COLCIENCIAS-Colombia por su beca de posgrado.

Bibliografía

1. Trujillo-Roldán MA, Moreno S, Galindo E, Espín G (2003) Alginate production by an *Azotobacter vinelandii* mutant unable to produce alginate lyase. *Appl Microbiol Biotechnol* 60:733-737
2. Peña C, Trujillo-Roldán MA, Galindo E (2000) Influence of the dissolved oxygen tension on the polymer molecular weight produced by *Azotobacter vinelandii*. *Enzyme Microb Technol* 27 (6): 390-398
3. Trujillo-Roldán MA, Peña C, Galindo E (2003) Components in the inoculum determine the kinetics of *Azotobacter vinelandii* cultures and the molecular weight of the alginate. *Biotechnol Lett* (submitted)