



# XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



## EVALUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN Y PESO MOLECULAR DEL POLIHIDROXIBUTIRATO (PHB) SINTETIZADO POR DIVERSAS CEPAS MUTANTES DE *A. vinelandii*.

Ma. Eugenia Ramírez<sup>1</sup>, Silvia L. Herrera<sup>1</sup>, Maraolina Domínguez<sup>2</sup>, Ángel Romo<sup>2</sup>, Daniel Segura<sup>1</sup>, Carlos Peña<sup>1</sup>.  
<sup>1</sup>Instituto de Biotecnología, UNAM. Departamento de Ingeniería Celular y Biocatálisis. <sup>2</sup>Instituto de Ciencias Físicas, Laboratorio de Nanopolímeros y Coloides, UNAM. <sup>1</sup>Apartado postal 510-3, Cuernavaca 62250, Morelos, México Fax: 52(777) 3 13 88 11, e mail: marg@ibt.unam.mx

*Palabras clave:* Poli (3-Hidroxibutirato), *Azotobacter vinelandii*, Peso Molecular.

**Introducción.** *Azotobacter vinelandii* es una bacteria que acumula polihidroxibutirato (PHB) en forma de gránulos. Este polímero presenta propiedades mecánicas similares a los plásticos derivados del petróleo, con ventajas de ser biodegradable, biocompatible y producirse a partir de fuentes renovables. Se ha demostrado que en los PHBs existe una dependencia general de las propiedades mecánicas como una función de su peso molecular (PM) (1). Debido al interés comercial de este compuesto, se han diseñado mutantes sobre productoras de PHB; sin embargo, se desconoce la calidad de los productos en términos de los PM.

El objetivo del trabajo fue evaluar a nivel de matraces agitados en condiciones de baja aereación, la producción y el PM de los PHB's sintetizados por *A. vinelandii* OP y tres mutantes (OPA, OPN y OPNA).

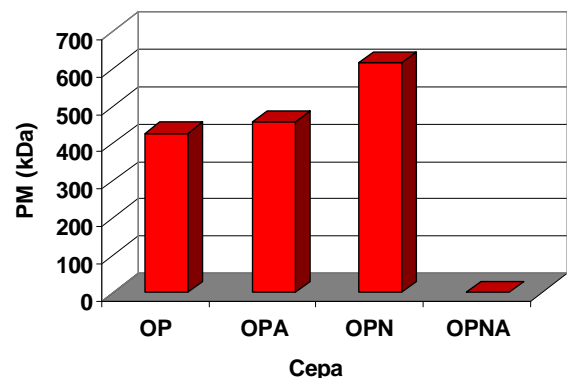
**Metodología.** Se empleó *A. vinelandii* cepa parental OP, la cual no produce alginato y las mutantes obtenidas de esta cepa, fueron: la OPA, rsmA<sup>-</sup> la cual no tiene la proteína RsmA (un regulador negativo de la traducción de los mensajeros phbR y phbC); OPN mutante ptsN<sup>-</sup>, que no tiene la enzima II A<sup>Ntr</sup> del sistema PTS-NTr (un regulador negativo de la síntesis de PHB) y una doble mutante, OPNA, la cual carece de los dos reguladores negativos anteriormente indicados. El PHB de las cepas fueron obtenidos en cultivos en lote con velocidades de transferencia de oxígeno disuelto (VTO) bajos empleando matraces de 500 ml con 100 ml de medio Burk, con acetato de amonio como fuente de nitrógeno a 200 rpm y 29°C. Al término de 62 h de cultivo, el PHB se extrajo empleando cloroformo y se cuantificó directamente por gravimetría. El peso molecular del polímero se determinó por viscosidad intrínseca mediante la ecuación de Mark-Houwink (2).

**Resultados.** De las cepas evaluadas, la mutante OPN mostró una mayor acumulación del PHB (80.6% en base al peso seco) y una mayor productividad (0.04 g/l/h) que la cepa parental OP (37.5 % p.s y 0.029 g/l/h respectivamente) (Tabla1). Interesantemente, la doble mutante OPNA no acumuló PHB. Es posible que el acetato de amonio pudiera afectar el crecimiento y acumulación de PHB.

**Tabla 1.** Producción de PHB de las mutantes de *A. vinelandii* en matraces con medio Burk bajo condiciones de baja aeración.

Cepa	Biomasa (g/L)	PHB (g/L)	Contenido de PHB (%p.s.)	Productividad PHB (g/L/h)
OP	4.8	1.8	37.5	0.029
OPN	3.1	2.5	80.6	0.04
OPA	3.9	1.9	48.7	0.031
OPNA	1	0	-	-

Por otra parte, el PM del PHB de la OPN fue mayor (617 kDa) con respecto a la cepa parental OP (427 kDa). La remoción de proteínas II A<sup>Ntr</sup> por inactivación de ptsN tuvo un efecto positivo en la producción, así como un incremento en el PM del poliéster. Sin embargo, es necesario realizar otros estudios que confirmen la actividad de la polimerasa con dicha cepa.



**Fig. 1.** Pesos moleculares del PHB de *A. vinelandii* OP y mutantes OPA, OPN, OPNA obtenidos en matraces convencionales.

**Conclusiones.** La mutante OPN acumula el doble de PHB (80.6% p.s.) con respecto a la cepa OP (37.5% p.s.). Además, el PM del bioplástico generado por la cepa OPN fue 45% mayor al observado en la cepa parental.

**Agradecimiento.** Al proyecto DGAPA (IN110310).

### Bibliografía.

- Renstad R., Karlsson S., Albertsson A.C. (1997). *Polym Degrad Stab* 57: 331-338
- Myshkina V. L., Nikolaeva D. A., Makhina T. K., Bonartsev A. P., Bonartseva G. A. (2008). *Appl Biochem Microbiol* 44 (5): 482-486



# **XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería**

