



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



CARACTERIZACIÓN DE PRODUCCIÓN Y PROPIEDADES QUÍMICO-REOLÓGICAS DE ALGINATOS MICROBIANOS SINTETIZADOS POR UNA CEPA MUTANTE DE *Azotobacter vinelandii* CULTIVADA BAJO CONDICIONES DE FIJACIÓN DE NITRÓGENO

Itzel Gaytán, Carlos Peña, Cinthia Núñez, María Soledad Córdova y Enrique Galindo

Departamento de Ingeniería Celular y Biocatálisis, Instituto de Biotecnología, UNAM, Apdo.Post. 510-3, Cuernavaca, 62210, Morelos, MEXICO, Tel: (777) 329-1777, itzelg@ibt.unam.mx

Palabras clave: alginato, *Azotobacter*, fijación de nitrógeno

Introducción. Los alginatos son polímeros de gran interés comercial por su capacidad viscosificante y gelificante. Se extraen de algas marinas; sin embargo, pueden ser sintetizados por *A. vinelandii*. Hasta ahora, la producción industrial de alginatos microbianos no ha sido posible debido a los bajos rendimientos. Sin embargo, se ha considerado que modificaciones genéticas en *A. vinelandii* permitirán la síntesis de alginatos con características específicas, lo que ha abierto la posibilidad de producir alginatos de alta calidad, hechos a la medida y con propiedades mejoradas en relación a los algales a fin de hacerlos eventualmente competitivos [1].

El objetivo de este trabajo fue caracterizar en cultivos líquidos, la cinética de crecimiento, producción y propiedades fisicoquímicas del alginato sintetizado por la cepa mutante ATCN4, afectada en la cadena respiratoria [2].

Metodología. La cepa ATCN4 de *A. vinelandii* se cultivó en medio Burk modificado libre de fuentes nitrogenadas. Los cultivos se desarrollaron en matraces agitados de 500 mL con 100 mL de volumen de llenado a 29 °C y 200 rpm durante 72 horas. El alginato se determinó gravimétricamente. La concentración de proteína y la relación ácido gulurónico/ácido manurónico (G/M) se evaluaron mediante técnicas espectrofotométricas. El grado de acetilación y el peso molecular del alginato (PM) se estimaron por cromatografía líquida de alta resolución [3]. La viscosidad aparente de caldos de fermentación y la capacidad gelificante de los alginatos se determinó con ayuda de un reómetro (TA Instruments AR 1000). Los mismos ensayos reológicos se realizaron para alginatos algales.

Resultados. Bajo condiciones de fijación de nitrógeno, la cepa mutante es capaz de sintetizar hasta 4.4 g alginato/g proteína, ~2 veces más en relación a la cepa silvestre (Fig. 1). Por otro lado, el análisis de los flujos de carbono mostró que la cepa ATCN4 consume únicamente el 35 % de la sacarosa contenida en el medio, siendo canalizada preferentemente hacia la síntesis de alginato (Fig. 2). En relación a la caracterización química, los alginatos sintetizados por la cepa mutante, exhibieron pesos moleculares superiores respecto a la cepa control (Tabla 1). En contraste, el grado de acetilación y la relación G/M

presentaron niveles inferiores, indicando mayor contenido de ácido manurónico (Tabla 1). La evaluación de la viscosidad aparente indicó que los polímeros extraídos de ATCN4 confieren mayor viscosidad al medio de cultivo así como un marcado comportamiento pseudoplástico, denotados por un alto índice de consistencia (K) y por un bajo índice de flujo (n) respectivamente. Además, las propiedades mecánicas de los geles de alginato (G^*) incrementan significativamente cuando estos se preparan a partir de los polímeros microbianos (Tabla 1).

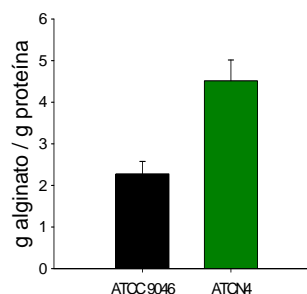


Fig. 1. Rendimiento de alginato por unidad celular de las cepas ATCN4 y ATCC 9046.

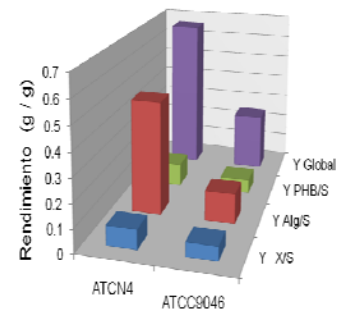


Fig. 2. Rendimientos con base a sacarosa de las cepas ATCN4 y ATCC 9046.

Tabla 1. Características fisicoquímicas de los alginatos

Fuente de alginato	PM (KDa)	Acetilos (%)	G/M	K (mPa·s ⁿ)	n	Gelificación G* (Pa)
Cepa ATCC 9046	900 ± 49	12 ± 1.4	4.6 ± 0.6	230 ± 50	0.5	13.5
Cepa ATCN4	2214 ± 324	5 ± 0.3	2.5 ± 0.4	352 ± 42	0.3	26
Algal	612 ± 53	-	3 ± 0.5	50	0.7	12

Conclusiones. Bajo condiciones de fijación de nitrógeno, tanto los rendimientos (Y Alg/X, Y Alg/S) como las características químicas y funcionales de los alginatos sintetizados por la cepa ATCN4, son superiores con respecto al producto de la cepa silvestre (ATCC 9046).

Agradecimiento. Se agradece a CONACyT el apoyo (proyecto 57220) para la realización de este trabajo.

Bibliografía.

- Galindo E, Peña C, Núñez C, Segura D, Espín G. (2007). *Microb Cell Fact.* 6(7): 1-16.
- Núñez C, Bogachev A, Guzmán G, Tello I, Guzmán J, Espín G. (2009). *Microbiol.* 155: 249-256.
- Peña C, Campos N, Galindo E. (1997). *Appl Microbiol Biotechnol* 48: 510-515.