

# OBTENCIÓN DE UNA MUTANTE DE *Phaffia rhodozyma* SOBREPDUCTORA DE ASTAXANTINA Y SU POSTERIOR DESARROLLO EN CULTIVO POR LOTE ALIMENTADO.

Leobardo Ordaz<sup>1\*</sup>, Ricardo A. Jiménez<sup>2</sup>, Ma. Teresa Ponce<sup>2</sup>.

Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología, IPN<sup>1</sup>. Av. Acueducto S/N, Domicilio conocido, Barrio la Laguna Ticomán, México D.F. C.P. 07340. Centro de Investigación y Estudios Avanzados IPN, Dpto. de Biotecnología y Bioingeniería<sup>2</sup>. Av. IPN No. 2508 Col. San Pedro Zacatenco, México D.F. C.P. 07360. Teléfono 5747-3800 ext. 4318. Fax: 5747-3800 ext. 4305. Email: [leordazcon@yahoo.com.mx](mailto:leordazcon@yahoo.com.mx).

Palabras clave: *Astaxantina*, *Phaffia*, *Bioproceso*.

**INTRODUCCIÓN.** Debido a la tendencia mundial de sustituir, en todo tipo de alimentos, colorantes sintéticos por los de origen natural, la demanda de astaxantina se ha incrementado en los últimos años. Prácticamente toda la astaxantina consumida en la acuicultura es sintética y producida y comercializada por la compañía Hoffman La Roche. Se han empleado diversas estrategias para establecer bioprocesos rentables para la producción del colorante. Aunque son pocos los microorganismos que poseen la capacidad de producir astaxantina, la levadura *Phaffia rhodozyma* es la más prometedora. En su forma silvestre, los contenidos intracelulares son muy bajos, del orden de 500 µg por cada gramo de células (1) lo que limita la productividad y la competitividad económica del bioproceso, por lo que una estrategia común ha sido la obtención de mutantes sobreproductoras.

El objetivo del presente trabajo fue la obtención de mutantes sobreproductoras de astaxantina y su posterior evaluación técnica para ser empleada en un bioproceso comercial.

**METODOLOGÍA.** Se partió de una cepa mutante de *Phaffia rhodozyma* conocida como 79Δ. Se emplearon como agentes mutagénicos la nitrosoguanidina (NTG) y el etilmetanosulfonato (EMS) a distintas concentraciones y tiempos de exposición. Se realizó una selección positiva con un inhibidor de la síntesis de β-carotenos: la “β-ionona” (30 mM). Las mutantes obtenidas se sembraron en cajas de Petri con medio YM para su posterior evaluación a nivel matraz y en fermentador de mesa, con distintos medios de cultivo y fuentes de carbono.

Se empleó un fermentador marca Applikon con 2 L de volumen de operación. La concentración celular (x) se cuantificó por peso seco, la glucosa residual (s) por el método de Miller (2) y los carotenoides totales de acuerdo a la técnica reportada por Schroeder y Jhonson (3).

**RESULTADOS Y DISCUSIÓN.** Se obtuvieron 5 mutantes que presentaron aumento en el color naranja-rojizo característico y resistencia a la β-ionona. A nivel matraz con medio mineral (MM) sólo la 1 y la R1 mostraron mayores cantidades de astaxantina que su parental (1270 µg/g cel y 1180 µg/g cel, respectivamente). No obstante, la R1 mostró mayor estabilidad en su producción, por lo que se eligió para evaluarla en fermentador de mesa. En este nivel se probaron dos medios: el M3 y el M4. El M3 resultó más adecuado

para crecer la cepa R1 en lote, por lo que se decidió emplearlo en un cultivo por lote alimentado (CLA) para mejorar la productividad. Los resultados se resumen en las Tablas 1 y 2, en las que se ve que la mutante R1 muestra mejores características para ser empleada en un proceso de producción de astaxantina que su parental y que la cepa silvestre.

**Tabla 1.** Resultados comparativos de las distintas cepas, cultivadas en lote a nivel fermentador en el medio M3.

Cepa	x g/l	Color mg/l	µ h <sup>-1</sup>	t <sub>F</sub> h	Y <sub>x/s</sub> g/g	Y <sub>p/x</sub> mg/g	Prod x 10 <sup>-3</sup> mg/l/h
Silvestre	5	1.2	0.062	70	0.302	0.24	17.14
79Δ	3.66	2.58	0.041	70	0.223	0.705	36.86
R1	4.33	3.14	0.055	70	0.303	0.725	44.85

**Tabla 2.** Resultados del crecimiento de la cepa R1, crecida en CLA a nivel fermentador en el medio M3.

Cepa	x g/l	Color mg/l	µ h <sup>-1</sup>	t <sub>F</sub> h	Y <sub>x/s</sub> g/g	Y <sub>p/x</sub> mg/g	Prod x 10 <sup>-3</sup> mg/l/h
R1	6	3.05	--	110	--	0.508	27.71
R1	5.4	3.4	--	110	--	0.63	30.93

El CLA, bajo las condiciones establecidas, no mejoró la productividad del bioproceso, probablemente debido a que al desconocer los parámetros cinéticos característicos de la cepa, existió un desbalance entre la oferta y la demanda de nutrientes.

**CONCLUSIONES.** Se logró obtener una cepa mutante de *Phaffia rhodozyma* (R1) cuya capacidad de producción de astaxantina, al crecerla en CL con un medio a base de melazas, fue 2.6 veces más que la silvestre y 1.22 veces más que su parental (la 79Δ). Aún está en estudio el mejoramiento de la productividad mediante un CLA.

**AGRADECIMIENTOS.** Al CINVESTAV y a la UPIBI-IPN.

## BIBLIOGRAFÍA.

1. Johnson, E., and An, G. (1991). Astaxanthin from microbial sources. *Crit. Rev. in Biotechnol.* 11:297-326
2. Miller, G. (1959). Use of dinitrosalicilic acid reagent for determination of reducing sugars. *Anal. Chem.* 31: 426-428.
3. Schroeder, W., and Johnson, E. (1993). Antioxidant role of carotenoids in *Phaffia rhodozyma*. *J. Gen. Microbiol.* 139: 907-912.