

DISEÑO DE UNA ESTRATEGIA EN CULTIVO LOTE ALIMENTADO PARA LA SOBREPDUCCIÓN DEL BIOPLASTICO P(3HB) DE ALTO PESO MOLECULAR POR LA CEPA *phbP3+* DE *A. vinelandii*

Alessandra Barrios¹, Jessica Ruíz², Daniel Segura², Tania Castillo¹, Enrique Galindo¹ y Carlos Peña¹

Instituto de Biotecnología, Departamento de Ingeniería Celular y Biocatálisis¹ y Departamento de Microbiología Molecular², Universidad Nacional Autónoma de México. Cuernavaca, Morelos, 62210. alessandra.barrios@ibt.unam.mx

Palabras clave: P3HB, peso molecular, *phbP3+*

Introducción. El poli-3-hidroxibutirato (P(3HB)) es un biopolímero que tiene propiedades termomecánicas similares a las de los polímeros derivados del petróleo, y se destaca por su biodegradabilidad y biocompatibilidad (1). En *Azotobacter vinelandii* se ha reportado la presencia de proteínas (phasinas) asociadas al gránulo de P(3HB), entre ellas la phasina P3. En estudios previos se ha demostrado que la sobre-expresión de la proteína *phbP3*, permite una mayor acumulación de P(3HB) de alto peso molecular (2). Por otro lado, los cultivos lote alimentados son una alternativa para obtener una alta concentración de P(3HB) con cepas de *A. vinelandii* como la cepa OPNA (3). Por esta razón, el objetivo del presente trabajo fue diseñar una estrategia en cultivos lote alimentado para maximizar la producción de P(3HB) de alto peso molecular con la cepa que sobre-expresa la proteína *phbP3* de *A. vinelandii*.

Metodología. Se llevó a cabo un cultivo lote alimentado de la cepa *phbP3+* de *A. vinelandii* en un biorreactor de 3 L utilizando medio Burk-Sacarosa (BS) suplementado con extracto de levadura (BSY) con una relación carbono-nitrógeno (C/N) = 18. Se uso una T = 29°C, pH = 7.2, agitación de 500 rpm (etapa lote) y 700 rpm (etapa alimentación), un volumen de llenado de 2 L y 1vvm. El primer pulso de alimentación se hizo con medio BSY, el segundo pulso se realizó con medio SEL (Sacarosa-Extracto de levadura). Se evaluó crecimiento celular, consumo de sustrato, producción y peso molecular del P(3HB), con las técnicas analíticas reportadas previamente (1,3).

Resultados. Al utilizar medio BSY con una relación C/N = 18 en la etapa lote, se observó una velocidad de consumo de sacarosa de 0.58 g L⁻¹ h⁻¹ y una producción de P(3HB) de 7 g L⁻¹ (Fig. 1 a y b). Después del primer pulso, la velocidad de consumo de sacarosa se incrementó de manera significativa (2 g L⁻¹h⁻¹), (Fig. 1a), alcanzando una concentración de P(3HB) de 17 g L⁻¹ (Fig. 1b). Después del tercer pulso de alimentación con el medio SEL se logró un máximo

de P(3HB) de 20 g L⁻¹, con un contenido celular de P(3HB) del 80 % (Fig. 1b). En todas las etapas del cultivo la producción estuvo asociada al crecimiento (Fig. 1b). Respecto a los pesos moleculares a lo largo del cultivo, rondaron entre 5,000 y 6,200 kDa, con un peso molecular máximo (48 h) de 6,117 kDa (Fig. 1c).

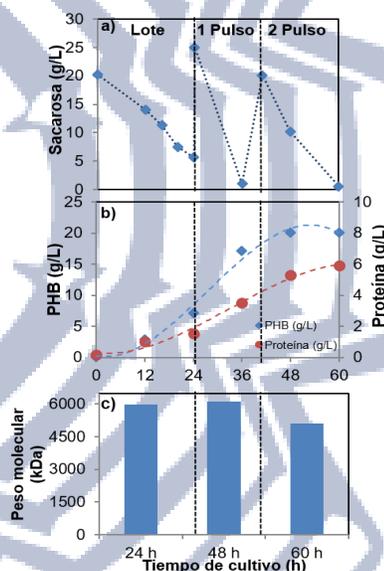


Fig. 1. Consumo de sacarosa (a), crecimiento, producción (b) y peso molecular de P(3HB) (c) en cultivo lote alimentado por la cepa *A. vinelandii* *phbP3+*.

Conclusiones. Mediante el uso de cultivos lote alimentados con medio BSY, con una relación C/N = 18 y la cepa *phbP3+*, fue posible alcanzar una concentración máxima de P(3HB) de 20 g L⁻¹. Si bien los títulos de producción son más bajos que los obtenidos previamente con la cepa OPNA, los pesos moleculares son 40 % superiores.

Agradecimiento. Apoyo financiero de PAPIIT-DGAPA de la UNAM (Proyecto BG200222).

Bibliografía

- Peña et al (2014). *Microbial Biotechnol*, 7(4), 278-293.
- Sotelo, P. (2022). *Tesis de licenciatura*, IBT – UNAM.
- Castillo et al (2017). *J Chem Technol Biotechnol*, 92: 1809-1816