

## Comparación de métodos químicos y enzimáticos para extracción de carbohidratos microalgales y su caracterización bioquímica y molecular.

Sandra Morales Arrieta<sup>1</sup>, César Maximiliano Vázquez<sup>1</sup>, y Dulce María Arias Lizárraga<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Ingeniería en Biotecnología, Universidad Politécnica del Estado de Morelos. Boulevard Cuauhnáhuac No. 566 Col. Lomas del Texcal Jiutepec, Morelos. CP 62550. <sup>2</sup>Instituto de Energías Renovables, Universidad Nacional Autónoma de México, Priv. Xochicalco s/n, Col. Centro, Temixco, Morelos. CP 62580. smorales@upemor.edu.mx

Palabras clave: cromatografía en capa fina, alginato y carbohidratos microalgales.

**Introducción.** Las microalgas componen un diverso grupo polifilético de microorganismos (eucariotas y procariotas) que se caracterizan por realizar fotosíntesis (1). Recientemente, la amplia gama de biomoléculas que sintetizan (carbohidratos, lípidos, proteínas y pigmentos) las han convertido en microorganismos comercialmente atractivos. Se estima que han descrito alrededor de 44000 especies de microalgas a nivel mundial, aisladas de diversos ambientes como agua dulce, agua marina y fuentes hidrotermales (2).

Con el objetivo de encontrar alternativas para la producción de algún biocombustible o biomoléculas de interés industrial, se evaluaron dos métodos de extracción de carbohidratos por vía química y enzimática para su cuantificación así como su aislamiento y caracterización usando como marcador la región espaciadora interna transcrita (ITS).

**Metodología.** Para el aislamiento y caracterización de la muestra microalgal se usaron técnicas clásicas de microbiología. Se extrajo el DNA genómico de las microalgas aisladas de acuerdo a (3), el cual fue usado como templado para la amplificación de la región ITS por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), se secuenciaron las 800 pb y se analizaron con herramientas bioinformáticas. Se evaluaron los métodos de extracción de carbohidratos presentes usando un método enzimático (proteínasa K) y otro químico HCl 1N a 100°C por 2h, se cuantificaron los carbohidratos de acuerdo a la técnica de Dubois *et al* (4). La naturaleza de los carbohidratos fue identificada de manera preliminar por cromatografía en capa fina.

**Resultados.** A partir de una muestra de agua de uso doméstico se aisló una microalga del cultivo mixto (fig. 1). El análisis bioinformático de la región ITS amplificada por PCR, arrojó un 80.99% de identidad con *Scenedesmus* sp. que concuerda con las morfologías descritas en la literatura para este tipo de microalgas.

Para comparar los métodos químicos y enzimáticos, se cuantificaron los carbohidratos presentes en ambos métodos, para el método de extracción con HCl 1N se obtuvieron 0.226 µg/mL y para el método enzimático 0.24 µg/mL, valores muy similares por lo que podemos

deducir que ambos métodos son adecuados pero el enzimático no genera residuos como los derivados del procesamiento con HCl.

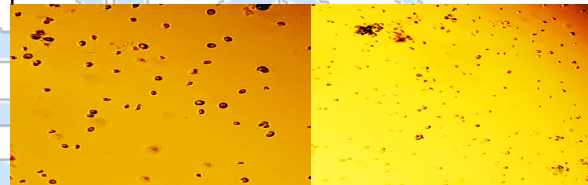


Fig. 1. Microalgas aisladas de una muestra extraída de aguas residuales domésticas, vistas con un microscopio óptico (40X).

El Análisis preliminar de la naturaleza de los carbohidratos presentes en microalgas se llevó a cabo por cromatografía en capa fina (TLC), en la figura 2 se pueden observar que mayoritariamente el carbohidrato extraído de la muestra microalgal presenta características muy similares al alginato.

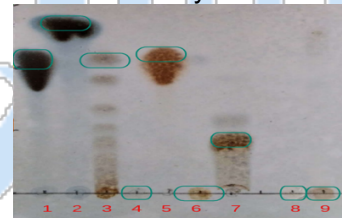


Fig. 2 Identificación de los carbohidratos microalgales por cromatografía en capa fina, 1-Glucosa, 2-Xilosa, 3-Inulina, 4 Dextrana, 5-Fructosa, 6-Levana, 7-Rafinosa, 8-Alginato y 9-Muestra,

**Conclusiones.** La microalga aislada de acuerdo a la región ITS secuenciada tiene un 80.99 % de identidad con *Scenedesmus* sp. Con los dos métodos de extracción de carbohidratos se obtuvo una concentración similar, pero el enzimático evita la generación de residuos tóxicos haciéndolo más amigable con el ambiente. El análisis cromatográfico indica que el carbohidrato en mayor proporción es el alginato.

**Agradecimientos.** Este trabajo fue financiado por (DGAPA-UNAM), PAPIIT Proyecto No. IA102821.

**Bibliografía.** 1. Andersen R. *The Microalgal Cell*. (2013). p. 3-20. 2. Barsanti L, Gualtieri P. (2013). *Algae: anatomy, biochemistry, and biotechnology*. p. 325 Bux F. (2013). *Biotechnological Applications of Microalgae*. p. 201. 3. Hoffman, C. S., & Winston, F. (1987). *Gene*, 57(2-3), 267-272. 4. Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., & Smith, F. H. (1956). *Analytical Chemistry*, 28(3), 350-356