XVIII Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería
León, Guanajuato 23 al 28 de junio 2019
Resumen de Trabajos Libres

FERMENTACIÓN EN LOTE Y LOTE ALIMENTADO CON LA BACTERIA *Saccharopolyspora spinosa* PARA LA PRODUCCIÓN DE ESPINOSINAS

Samuel Cortes Martínez, Arnbald Peraza de la Cruz, Juana Casados Molar, Nancy Deyanira Hernández Castellanos, Miguel Alberto Pérez Vargas, Héctor Alejandro Jiménez Avalos, Leandro Chaires Martínez y Alejandro Cruz Hernández

Centro de Investigación en Alimentos y Ambiental. Instituto Tecnológico Superior de Álamo Temapache/Tecnológico Nacional de México. Km 6.5 Carretera Potrero del Llano-Tuxpan. Xoyotitla, Álamo. Ver. CP. 92750. Correo: alex_monarcas@hotmail.com

Palabras clave: Saccharopolispora spinosa, espinosinas, lote alimentado.

Introducción. Los cítricos son de importancia económica en la región de Veracruz; sin embargo, han sido atacados por plagas, principalmente por la *Diaphorina citr*i, vector del (Huanglongbing) (1). Las estrategias para combatir esta plaga han sido el uso de productos no amigables, como los plaguicidas organofosforados (2). Por otra parte, las lactonas macrocíclicas (espinosinas A, D) (3) son amigables con el ambiente. Existen diversos estudios de producción de espinosinas, a nivel matraz y biorreactor en lote, sin embargo, el rendimiento es mínimo (4) con sustratos elevados 20-60 g/L. Por lo que resulta una alternativa el estudio de producción de espinosinas en otros sistemas de cultivo para optimizar el consumo de sustrato.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto del sistema de cultivo (lote y lote alimentado) sobre la producción de biomasa de *S. spinosa*, el consumo de sustrato y la producción de espinosinas.

Metodología. La cepa utilizada fue la CDBB B-1920. Se realizaron 4 corridas con 3 repeticiones en un biorreactor de 10 L con 2 L de medio de cultivo que contenía extracto de levadura (3 g/L), $MgSO_4.7H_2O$ (2 g/L) y dextrosa (10 g/L). En el sistema en lote se varió la agitación (70, 140 y 210 rpm) y en lote alimentado se fijó a 140 rpm, iniciando con 2 L de medio e incrementando 500 mL cada 24 h por 5 días. La aeración permaneció constante (2.25 vvm) así como la temperatura 26°C. A cada corrida se le determino biomasa mediante peso seco, azucares reductores por DNS (5) y para la cuantificación de espinosinas se utilizó HPLC (6). Se compararon las medias mediante prueba Tukey, para ver diferencias significativas ($P<0.05$) entre las corridas de fermentación con el programa Minitab-20.

Resultados. En la **Tabla 1** se presentan los valores obtenidos de biomasa en cada corrida. Se puede observar que en la corrida en lote alimentado se obtuvo la mayor biomasa (1 g/L), consumiendo el 98% del sustrato.

Tabla 1.- Producción de biomasa y sustrato residual

PARAMETRO	X (g/L)	Sr (g/L)
L210rpm,72h	0.740±0.056[a]	0.146
L140rpm,96h	0.740±0.033[a]	0.729
L70rpm, 72h	0.545±0.092[b]	0.180
LA140rpm,72h	1.013±0.027[c]	0.222

X: Biomasa; Sr: Sustrato residual.

En lo que respecta a la cuantificación de espinosinas mediante HPLC, se obtuvo una curva de calibración con una con una R^2 de 0.9856. De esta manera se obtuvieron los resultados para las corridas experimentales (**Tabla 2**). Se determinó que trabajando en lote alimentado a 140 rpm en 72 h se promovió la mayor producción de espinosinas (563 mg/L). Por otro lado, la menor producción fue en el reactor en lote a 210 rpm en 72 h, con 42 mg/L, debido a que la agitación provoco daños en la estructura celular. Algunos autores han reportado en lote alimentado la producción de 121 mg/L en una cepa normal de *S. spinosa* y 268 mg/L para una cepa mutada (7). 420 mg/L mediante cepas recombinantes de *S. spinosa* (8). 320 mg/L usando un medio complejo y agregando 60 g/L de carbohidratos (9), recordando que en esta investigación se trabajó con 10g/L.

Tabla 2. Producción de Spinosinas

PARAMETRO	Espinosinas mg/L
Lote 210rpm, 72h	42.135±0.036[a]
Lote 140rpm, 96h	253.330±0.003[b]
Lote 70rpm, 72h	238.880±0.052[c]
L. Alimentado 140rpm, 72h	563.030±0.028[d]

Conclusiones. En el presente trabajo se demostró que al trabajar en fermentación en lote alimentado se promueve la mayor producción de biomasa de *S. spinosa* (1.013 g/L); además se observó que existe una correlación de la producción de espinosinas (563.030 mg/L). Por lo tanto, a mayor producción de biomasa, mayor es la producción de espinosinas, tan solo usando la mínima cantidad de sustrato.

Agradecimientos. Se agradece al TECNM por el financiamiento del proyecto 520.18-PD.

Bibliografía.

1. Cermeli M, *et al*. (2000). Biblioteca, Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (CENIAP)
2. Bové J-M, (2006). *J. Plant Pathol*. 88:7-37.
3. Manjunath K-L, *et al*. (2008). *Phytopathol*. 98:387-396
4. Ortega L-D, *et al*. (2013). *Acta Zoológica Mex*. 29:317-333
5. Miller G, (1959). *Anal. Chem*. 31:426-428
6. Kumar *et al*. (2014). Molecules and Cells. 727-733.
7. Zhi-hua J, *et al.* (2006). *J. Zhejiang Univ. Science A*. 7:366-370
8. Madduri K, *et al.* (2001). *J. Bacteriol*. 183:5632-8.