

## PRODUCCIÓN DE POLI-3-HIDROXIBUTIRATO DE ULTRA ALTO PESO MOLECULAR CON LAS CEPAS MUTANTES OP Y *phbZ*<sup>-</sup> DE *Azotobacter vinelandii* BAJO CONDICIONES MICROAEROFÍLICAS.

Elsa Gómez<sup>1</sup>, Alfredo Martínez<sup>1</sup>, Daniel Segura<sup>2</sup>, Carlos Peña<sup>1</sup>

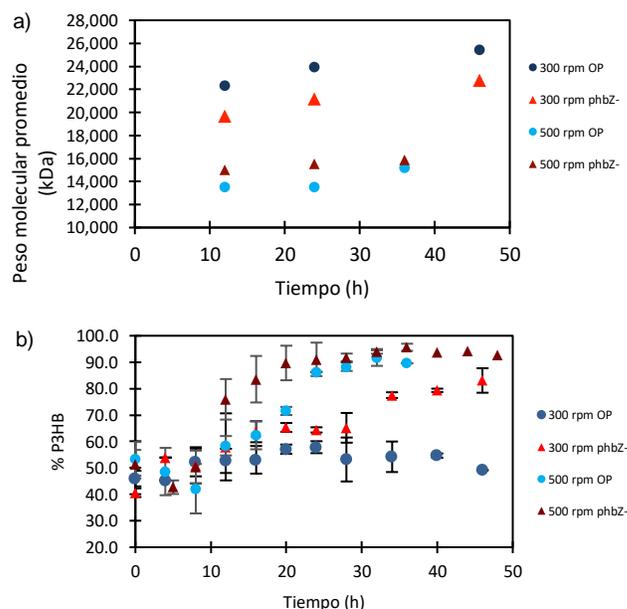
1 Departamento de Ingeniería Celular y Biotecnología, 2 Departamento de Microbiología Molecular, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Cuernavaca, Mor. 62210, México  
[elsagom@ibt.unam.mx](mailto:elsagom@ibt.unam.mx)

*Palabras clave: poli-3-hidroxitirato, Azotobacter, peso molecular.*

**Introducción.** El poli-3-hidroxitirato (P3HB) es un biopolímero de la familia de los polihidroxicanoatos. Este bioplástico se produce en forma de inclusiones intracelulares como reserva de carbono y energía por la bacteria *Azotobacter vinelandii* [1]. El P3HB tiene características similares a las de los plásticos derivados de la industria petroquímica [1]. Su uso se ha centrado en el campo de la biomedicina, ya que también es un polímero totalmente biodegradable y biocompatible [2]. Las propiedades termomecánicas y la biodegradabilidad de P3HB están determinadas por su peso molecular [2]. En estudios recientes se ha reportado que, a bajos porcentajes de saturación de oxígeno (1 % de oxígeno disuelto), *A. vinelandii* produce polímeros de alto peso molecular (entre 3500 y 5500 kDa) [3]. En este estudio, dos cepas mutantes de *A. vinelandii*, con la capacidad de producir P3HB de alto peso molecular, se cultivaron en condiciones microaerofílicas en biorreactor utilizando bajas tasas de agitación.

**Metodología.** Las cepas de *A. vinelandii* (OP y *phbZ*<sup>-</sup>) se cultivaron en medio PY, que contiene sacarosa (20 g/L), peptona (5 g/L) y extracto de levadura (3 g/L). Los cultivos por lotes se llevaron a cabo en biorreactores de 3 L con 2 L de volumen de trabajo. Se utilizaron dos condiciones de agitación (300 y 500 rpm) con una aireación de 1 vvm, controlando el pH a 7.2 y sin control de la tensión de oxígeno disuelto. La recuperación de P3HB se realizó como se describió anteriormente [3]. El análisis de peso molecular se realizó mediante cromatografía de permeación de gel (GPC) utilizando una columna Shodex K-800 en un sistema de HPLC, acoplado con un detector de índice de refracción. Se construyó una curva de calibración con estándares de poliestireno como se describe en [3].

**Resultados.** Como se observa en la Figura 1a, el peso molecular promedio (MMW) de P3HB incrementó significativamente en los cultivos realizados a una velocidad de transferencia de oxígeno máxima (VTO<sub>max</sub>) de 5 mmol/L·h (300 rpm) alcanzando valores en el intervalo de 22,000 a 25,000 kDa, con las cepas OP y *phbZ*<sup>-</sup>, respectivamente; en comparación con el MMW alcanzado en los cultivos desarrollados a 8 y 11 mmol/L·h (500 rpm), donde se obtuvo un polímero de peso molecular entre 15,000 y 16,000 kDa. La acumulación inicial de P3HB (Figura 1b) en las células fue de alrededor del 50 % con ambas cepas; a medida que el cultivo evolucionó, la acumulación de P3HB aumentó, alcanzando hasta el 93 % con respecto a la biomasa en peso seco para la cepa *phbZ*<sup>-</sup> y el 89% para la cepa OP cultivada a VTO<sub>max</sub> de 8 y 11 mmol/L·h (500 rpm).



**Fig. 1.** Peso molecular promedio de P3HB (a) y porcentaje de acumulación de P3HB (b) en las cepas OP y *phbZ*<sup>-</sup> a 500 rpm (VTO<sub>max</sub> de 8- 11 mmol/L·h) y 300 rpm (VTO<sub>max</sub> de 5 mmol/L·h).

**Conclusiones.** Las condiciones microaerofílicas (VTO<sub>max</sub> = 5 mmol/L·h) promueven la producción de P3HB de ultra alto peso molecular en cultivos en biorreactores utilizando las cepas OP y *phbZ*<sup>-</sup> de *A. vinelandii*. Se encontró además, una relación inversa entre el porcentaje de acumulación de P3HB y el peso molecular del polímero, observándose que, a una alta VTO<sub>max</sub> ambas cepas acumulan un alto porcentaje de P3HB (90%), pero con un peso molecular más bajo (15,000 kDa).

**Agradecimientos.** El presente trabajo fue realizado gracias al financiamiento del PAPIIT-UNAM (IG2002019). Durante la realización del mismo se contó con beca de maestría del CONACyT.

### Bibliografía.

- Chen, G. Q., & Wang, Y. (2013). *Chinese J Polym Sci.* 31(5), 719–736.
- Domínguez-Díaz, M., et al. (2015). *Eur Polym J.* 63, 101–112.
- Millán, M., et al. (2017). *J Biotechnol.* 10(259), 50–55.