

BIOSÍNTESIS DE POLIHIDROXIBUTIRATO EN BIORREACTOR POR LA BACTERIA HALÓFILA Halomonas titanicae KHS3.

RODRÍGUEZ, Ailén N^b; PIDHIRNYJ, María I^a; PERETTI CANALE, María V^a; HERRERA SEITZ, María K^c; BECCARIA, Alejandro J^a; STUDDERT, Claudia A^b.

a) Laboratorio de Fermentaciones. Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas. Universidad Nacional del Litoral. b) Instituto de Agrobiotecnología del Litoral. CCT-Santa Fe.

c) Instituto de Investigaciones Biológicas. CONICET. Universidad Nacional de Mar del Plata.

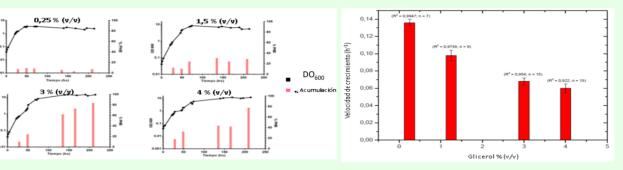
El polihidroxibutirato (PHB) es un polímero biodegradable y biocompatible sintetizado por diversos microorganismos. Ht KHS3 es una cepa ambiental aislada del agua de puerto del Mar del Plata capaz de sintetizar PHB a partir de glucosa y fenantreno como única fuente de carbono. El objetivo de este trabajo fue caracterizar la capacidad de Ht KHS3 de acumular PHB a expensas de glicerol como única fuente de carbono, sustrato de relevancia por su creciente oferta relacionada al proceso de elaboración de biodiésel.

Método de cuantificación de PHB.



Cuantificación de PHB mediada por NaClO. Se trata la suspensión celular con NaClO 1%. Se incuba a 37°C media hs. Se mide la DO₆₀₀ de una suspensión tratada con agua y otra tratada con NaClO.

Crecimiento y acumulación de PHB en diferentes concentraciones de glicerol.

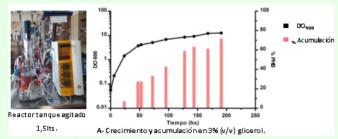


Se estudió el crecimiento y acumulación de *Ht* KHS3 en un medio mínimo con diferentes concentraciones de glicerol como única fuente de carbono a 28°C con agitación orbital (200rpm). El crecimiento se siguió por determinación de la DO₆₀₀ y la acumulación de PHB se midió por el ensayo turbidímetrico de hipoclorito de sodio.

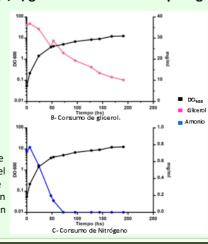
El análisis de RMN reveló que el polímero acumulado en glicerol es PHB.

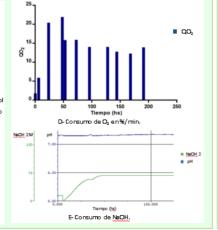
Ht KHS3 es capaz de crecer en glicerol. A bajas concentraciones la velocidad específica de crecimiento (μ) es de 0,09 y 0,1 h $^{-1}$ y la acumulación de PHB es baja. A mayores concentraciones de glicerol la μ es menor pero los porcentajes de acumulación son mucho mayores. De acuerdo a estos resultados se eligió la condición de 3% (ν / ν) de glicerol para realizar cultivos batch en biorreactor tanque agitado.

Caracterización de Ht KHS3 en 3% (v/v) glicerol en reactor tanque agitado.

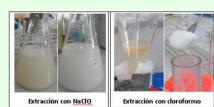


La condición 3% (v/v) glicerol fue reproducible en el reactor tanque agitado. Se determinó el consumo de glicerol y nitrógeno remanente en el medio de cultivo y se observó que el nutriente limitante que condiciona la entrada a fase estacionaria es el nitrógeno. Se observa un elevado consumo de base y demanda de oxígeno durante la fase de crecimiento exponencial y entrada la fase estacionaria estos consumos son constantes debido a los gastos mínimos necesarios para el mantenimiento celular. En fase estacionaria se observó la máxima acumulación de PHB.





Métodos de extracción de PHB



El PHB producido en estas condiciones fue extraído con dos métodos diferentes para evaluar el efecto de la extracción sobre el peso molecular y las propiedades del polímero. En estos momentos se encuentran en análisis.

Conclusiones

Se logró desarrollar un cultivo batch en un sistema escalable tal como un biorreactor tanque agitado, usando una fuente de carbono económica y sustentable. Esto nos permite producir mayor cantidad de PHB para ser caracterizado y utilizado en potenciales aplicaciones.