



UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE INGENIERÍA

TESIS DE DOCTORADO EN INGENIERÍA QUÍMICA

BACTERIAS ANTÁRTICAS COMO FUENTE DE PIGMENTOS NATURALES

Autor:

María Eugenia Vila

Directoras de Tesis:

Dra. Claudia Lareo

Dra. Verónica Saravia

Montevideo, Uruguay

3 de junio, 2021

Resumen

En la actualidad existe una creciente preferencia de los consumidores por artículos más seguros y ambientalmente amigables. Dado que los pigmentos cumplen un rol preponderante en una amplia variedad de productos, se han buscado fuentes alternativas que cumplan con las exigencias de los consumidores.

Las bacterias tienen un gran potencial como fuente de pigmentos, siendo en los últimos años un campo emergente de investigación. Sin embargo, la mayoría de los procesos de producción con pigmentos bacterianos está todavía en fase de investigación y desarrollo, lo que supone una interesante oportunidad de profundización.

El objetivo de este trabajo fue estudiar el potencial de bacterias antárticas heterótrofas como fuente de pigmentos, a través de un proceso biotecnológico. Los pigmentos cumplen funciones adaptativas en las bacterias, protegiéndolas de condiciones ambientales extremas como bajas temperaturas, ciclos de luz-oscuridad, poca disponibilidad de agua y/o nutrientes y altas cargas de radiación ultravioleta y visible. Por esta razón, el ecosistema antártico resulta interesante para la búsqueda de potenciales microorganismos como fuentes alternativas de pigmentos.

Se aislaron 30 cepas productoras de pigmentos pertenecientes a siete diferentes géneros bacterianos: *Arthrobacter*, *Salinibacterium*, *Cryobacterium*, *Flavobacterium*, *Zobellia*, *Chryseobacterium* y *Panococcus*.

Se determinó la naturaleza de los diez pigmentos producidos por las cepas aisladas, siendo mayoritariamente carotenoides. Se identificaron carotenoides C40 (zeaxantina, β -caroteno, β -criptoxantina, β -zeacaroteno y licopeno), carotenoides C50 (decaprenoxantina, sus derivados glicosilados, C.p. 450) y su derivado glicosilado. Las cepas pertenecientes a los géneros *Cryobacterium*, *Salinibacterium* y *Planococcus* fueron identificadas como nuevas fuentes de carotenoides C50. Se detectó la presencia de flexirrubinas en cepas de *Flavobacterium* sp. y *Zobellia* sp. Se seleccionó una cepa del género *Flavobacterium* para evaluar su potencial como fuente de zeaxantina y carotenoides.

Se estudió la influencia de diferentes factores en la producción de zeaxantina, β -criptoxantina y β -caroteno (temperatura, fuentes de carbono, fuentes de nitrógeno, sales) de la cepa *Flavobacterium* sp. P8 en matraces agitados. Se utilizó la metodología de diseño estadístico

de experimentos para formular un medio de cultivo para la producción de zeaxantina. Se determinó inicialmente que la peptona, el extracto de levadura y NaCl fueron los componentes con mayor influencia en la concentración de biomasa. Se realizó un diseño experimental factorial completo para determinar las concentraciones de estos tres componentes que favorezcan la producción de zeaxantina y carotenoides totales. Se formularon dos posibles medios de cultivo (medio 5 y PC). El medio 5 (2 g/L de peptona, 2 g/L de extracto de levadura y 24 g/L de NaCl), presentó mayor contenido y concentración de zeaxantina ($105 \pm 7 \mu\text{g}_{\text{zeaxantina}}/\text{g}_{\text{biomasa}}$ y $272 \pm 19 \mu\text{g}_{\text{zeaxantina}}/\text{L}$, respectivamente). El medio PC (7 g/L de peptona, 7 g/L de extracto de levadura y 15 g/L de NaCl) presentó las mayores concentraciones de biomasa ($4,5 \pm 0,1 \text{ g/L}$) y de carotenoides totales ($426 \pm 29 \mu\text{g/L}$). Estas formulaciones se utilizaron para cultivar la cepa de *Flavobacterium* sp. P8 bajo condiciones de aireación controlada. Se seleccionó el medio PC por alcanzar una concentración de zeaxantina de $2184 \pm 75 \text{ mg/L}$, siendo el 98% del total de carotenoides.

Se realizó el escalado del proceso a un biorreactor de laboratorio para estudiar el efecto de la concentración de oxígeno disuelto sobre el crecimiento y la producción de carotenoides de la cepa *Flavobacterium* sp. P8. La disponibilidad de oxígeno tuvo efecto sobre la concentración de biomasa y la producción de zeaxantina y carotenoides totales. Los mejores resultados se obtuvieron con una concentración de oxígeno disuelto del 10% de saturación, alcanzando un contenido y concentración de zeaxantina de $442 \pm 12 \mu\text{g}_{\text{zeaxantina}}/\text{g}_{\text{biomasa}}$ y $2833 \pm 76 \mu\text{g}_{\text{zeaxantina}}/\text{L}$, respectivamente.

Por último, se estudió la modalidad de operación *fed-batch* en el biorreactor. Se obtuvo una concentración de biomasa mayor y un contenido de carotenoides totales similar al obtenido en modo *batch* ($530 \mu\text{g}/\text{g}_{\text{biomasa}}$). Sin embargo, la conversión de carotenoides a zeaxantina fue menor (86% en modo *batch* y 26% en modo *fed-batch*), obteniéndose una concentración de zeaxantina menor ($2149 \pm 99 \mu\text{g}_{\text{zeaxantina}}/\text{L}$). Por lo tanto, el modo de operación *fed-batch* en las condiciones ensayadas en esta tesis no presentó mejoras para la producción de zeaxantina, pero incrementó la concentración de carotenoides totales debido al aumento de la concentración de biomasa.

Flavobacterium sp. P8 mostró ser una cepa con potencial biotecnológico para la producción de zeaxantina, β -criptoxantina y β -caroteno. Los requisitos de oxígeno para el crecimiento microbiano y la biosíntesis de zeaxantina incorporan una variable que requerirá

consideraciones adicionales en trabajos futuros. Los rendimientos alcanzados en las condiciones estudiadas fueron similares a los de otros microorganismos mesófilos.

Palabras clave: *Antártida, pigmentos, bacterias, carotenoides, Flavobacterium sp., zeaxantina, biorreactor*