

# RENDIMIENTO DE LÍPIDOS CON Y SIN NITRÓGENO LIMITANTE EN LEVADURAS OLEAGINOSAS AISLADAS EN LOS ANDES NORPERUANOS

Víctor Javier Vásquez Villalobos,  
Bertha Soledad Soriano Bernilla,  
César Alexander Méndez Polo,  
Freddy Jonathan Quiroz Rodríguez

Laboratorio de Biomoléculas – Departamento de Ciencias Agroindustriales. Universidad Nacional de Trujillo, (Perú).

E-mails: [vvasquez@unitru.edu.pe](mailto:vvasquez@unitru.edu.pe), [bsoriano@unitru.edu.pe](mailto:bsoriano@unitru.edu.pe), [crojasp@unitru.edu.pe](mailto:crojasp@unitru.edu.pe), [calexmp@gmail.com](mailto:calexmp@gmail.com), [jonqr19@gmail.com](mailto:jonqr19@gmail.com)

## INTRODUCCIÓN

Microorganismos oleaginosos pueden producir alto contenido de lípidos con miras a la obtención de biodiesel, siendo las levaduras oleaginosas (LO) los microorganismos prometedores en comparación a las microalgas, mohos y bacterias, ya que pueden acumular más del 70% de lípidos en su biomasa, poseyendo una elevada tasa de crecimiento, productividad y baja necesidad de área para su producción, debido a que se puede cultivar en biorreactores bajo condiciones controladas (Vasconcelos *et al.*, 2019). Las LO no solo se pueden utilizar como materia prima para producir biodiesel, sino que se pueden adaptar a la producción de nutraceuticos empleando ingeniería metabólica (Dey y Maiti, 2013; Patel *et al.*, 2020).

Debido a la limitación de nitrógeno por aumento de carbono en el medio de cultivo, se produce un elevado contenido de lípidos celulares, pero contrariamente una menor producción de biomasa celular, en la que según Ratledge (2002), la fuente de carbono se convierte en lípidos de almacenamiento.

El objetivo de la presente investigación fue aislar LO con un contenido superior al 20%, identificar LO, evaluar la cinética de crecimiento, productividad de biomasa y lípidos empleando los medios de cultivo con C/N 100:1 con xilosa nitrógeno limitante y 2:1 con glucosa.

## DESARROLLO

**Aislamiento de levaduras.** Se aislaron levaduras de los andes norperuanos entre 3148.5 y 3398.0 m.s.n.m. (7°02'10.69"S 78°38'04.39"O, 7°02'32.66"S 78°38'28.87"O y 8°00'07.25"S 78°27'51.27"O). **Selección.** De cada muestra aislada se sembró una asada en matraces con M-YPD (medio yeast extract peptone dextrose) incubándose a 30°C, con una agitación de 150 rpm durante 48 h. Seguidamente 1 mL de las muestras enriquecidas en el M-YPD, se adicionaron a los matraces con medio C/N 100:1+xilosa a pH 7.0 (**MS-1-7**) incubándose a 30°C con una agitación de 150 rpm por 48 h. **Determinación del contenido de lípidos.** Se determinó de acuerdo a: (biomasa seca inicial – biomasa seca final) / (biomasa seca inicial) x 100.

Las muestras con un contenido de lípidos mayor a 20% fueron sembradas en medio sólido M-YPD y conservadas en refrigeración a 4°C. **Identificación molecular.** Se empleó los servicios de MacroGen Inc. quienes realizaron la amplificación del material genético mediante la técnica de Sanger de las secuencias de regiones espaciadoras transcritas internas ITS del ADN ribosómico conservado (ADNr). **Evaluación de la cinética de crecimiento de levaduras oleaginosas.**

El crecimiento de las levaduras fue cuantificado para MS-1-7 y medio C/N 2:1+glucosa (**MS-2-7**) en intervalos de 1 h empleando la cámara de Neubauer y microscopía óptica 40X. El crecimiento fue contrastado con el modelo de Gompertz tipo II parametrizado (Tjørve y Tjørve, 2017):  $Y = A \exp(-\exp(b - K_G t))$  Donde: Y:  $\log(N/N_0)$ , siendo N el número de levaduras (células/mL) en función del tiempo t (h) y  $N_0$  el número de levaduras iniciales (células/mL) en el tiempo t = 0 h. A es la asíntota superior (valor de crecimiento máximo absoluto), b es una constante,  $K_G$  es el coeficiente de la tasa de crecimiento.

**Rendimiento de lípidos.** Al cabo de 24 horas de crecimiento para las cepas en medio MS-1-7 y 66 horas para las cepas en medio MS-2-7 se procedió a evaluar el contenido de lípidos siguiendo los procedimientos descritos anteriormente, así como su rendimiento.

## CONCLUSIONES

- Se aislaron e identificaron molecularmente cepas de levaduras oleaginosas *Rhodotorula glutinis*, *R. mucilaginosa* y *R. kratochvilovae* a partir de muestras de suelo tomadas de cuencas de ríos de las regiones de los andes norperuanos sobre los 3 000 m.s.n.m.
- Se determinó que la relación C/N en el medio de cultivo tiene influencia en la cinética de crecimiento, los rendimientos de biomasa seca y lípidos. Con el medio de cultivo MS-1-7 (C/N 100:1 + xilosa y N limitante) se obtuvo una elevada velocidad específica de crecimiento ( $\mu_{max}$ ) en las tres cepas, alcanzando la fase estacionaria entre 6 a 9 h, así como la mayor acumulación de lípidos entre 23 y 32%. Con el medio MS-2-7 (C/N 2:1 + glucosa) se obtuvo el máximo de biomasa en la fase estacionaria entre 37 y 51 h, lo que generó los mayores rendimientos de biomasa seca al concluir todo el proceso, con un rendimiento de lípidos de 4.65; 5.59 y 8.80 gL<sup>-1</sup> en las cepas mencionadas, mayor al obtenido con el medio MS-1-7 de 3.09, 3.21 y 2.91 gL<sup>-1</sup>.
- R. kratochvilovae* tiene potencial para ser utilizada en procesos de producción de biodiesel, empleando un medio de cultivo sin limitación de N con elevada concentración de carbono durante la operación unitaria de fermentación. Cuyos rendimientos a nivel industrial pueden mejorar utilizando ingeniería genética y de biorreactores, así como empleando una fuente de carbono más eficiente.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Dey, P., y Maiti, M. K. (2013). Molecular characterization of a novel isolate of *Candida tropicalis* for enhanced lipid production. *Journal of Applied Microbiology*, 114(5), 1357-1368. <https://doi.org/10.1111/jam.12133>
- Patel, A., Karageorgou, D., Rova, E., Katapodis, P., Rova, U., Christakopoulos, P., y Matsakas, L. (2020). An Overview of Potential Oleaginous Microorganisms and Their Role in Biodiesel and Omega-3 Fatty Acid-Based Industries. *Microorganisms*, 8(3), 434. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8030434>
- Ratledge C. (2002). Regulation of lipid accumulation in oleaginous micro-organisms. *Biochemical Society Transactions*, 30(6), 1047-50. <https://doi.org/10.1042/bst0301047>
- Tjørve, K. M. C., y Tjørve, E. (2017). The use of Gompertz models in growth analyses, and new Gompertz-model approach: An addition to the Unified-Richards family. *PLoS ONE*, 12(6), 1-17. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178691>
- Vasconcelos, B., Teixeira, J. C., Dragone, G., y Teixeira, J. A. (2019). Oleaginous yeasts for sustainable lipid production—from biodiesel to surf boards, a wide range of “green” applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(9), 3651-3667. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-09742-x>