

Evaluación de la actividad antioxidante de los carotenoides totales producidos por la microalga *Haematococcus pluvialis* bajo distintos periodos de estrés

Claudio Guajardo-Barbosa¹, Julio César Beltrán-Rocha², Alma Elisa Mora-Zúñiga¹, Juan Antonio Gallegos-López¹, Ulrico Javier López-Chuken², Luis Jesús Galán- Wong¹, Isela Quintero-Zapata¹, Myriam Elías-Santos^{1*}

¹Instituto de Biotecnología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, México

²Laboratorio de Investigación en Ciencias Ambientales, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, México

*myriam.eliassn@uanl.edu.mx

Palabras clave: microalgas, *Haematococcus*, carotenoides, carotenogenesis

Introducción

La microalga *Haematococcus pluvialis* es productora de antioxidantes carotenoides como la luteína, β -caroteno, cantaxantina, astaceno, equinenona y astaxantina; los cuales han demostrado que inhiben las especies reactivas del oxígeno (ROS) y proporcionan efectos de protección contra la radiación solar. (Gilaberte *et al.*, 2016). Asimismo, del alto potencial del uso de adoptar extractos de *H. pluvialis* como una mezcla antioxidante de uso común, su producción comercial resulta limitada debido a los altos costos de producción debido a la dificultad por romper la pared celular del hematocisto. En base a las limitantes costo-efectivas, el presente trabajo plantea una estrategia viable de producción a escala semipiloto tomando en cuenta la producción de biomasa y la concentración de carotenoides de acuerdo al ciclo biológico de *H. pluvialis*.

Parte Experimental

Se trabajó a partir de hematocistos precipitados en medio acuoso de *H. pluvialis* (perteneciente al cepario del Instituto de Biotecnología FCB/UANL). Para eliminar posibles microorganismos contaminantes se procedió a realizar una etapa previa de desinfección consistente en la toma de una muestra de 20 mL de precipitado de hematocistos adicionada con una solución de hipoclorito de sodio comercial diluida al 6% durante 8 h. Posteriormente para confirmar viabilidad, se realizó un examen del contenido de aplanosporas, usando la técnica de permeabilidad azul de Evans (Papazi *et al.*, 2010).

Las condiciones de cultivo de *H. pluvialis* consistieron en el uso de hematocistos desinfectados cultivados en un fotobiorreactor tipo Air lift (capacidad de 3 L), usando solución nutritiva LC estéril. Las condiciones generales del producción de biomasa fueron: luz continua a 3200 lumen, flujo de aire estéril 1.5 L / min y temperatura de 25°C. Posteriormente, bajo las mismas condiciones se procedió a escalar la producción a 14 L utilizando un fermentador (New Brunswick). Durante la producción se realizó una cinética de crecimiento en espectrofotómetro Beckman DU650 a 660 nm hasta llegar a la fase estacionaria del cultivo. Sucesivamente la biomasa producida fue sometida a estrés durante 12 días (i.e. posteriores a la fase estacionaria) con la adición de cloruro de sodio y acetato de sodio aunado al agotamiento de nutrientes (e.g. nitrógeno), muestreando cada 4 días (pasando a estadios de zoospora, palmela, precisto y cisto sucesivamente, procurando no llegar al estadio de hematocisto). Finalmente, se realizó la extracción de los carotenoides de la biomasa de cada periodo de estrés, por el método Bligh y Dyer (1959), para posteriormente cuantificar por espectrofotometría UV-VIS a 450 nm (espectrofotómetro Beckman DU650) los carotenoides totales, a los cuales se les realizó la cuantificación de la actividad antioxidante por el método DPPH (2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo).

Resultados y Discusiones

El cultivo de *H. pluvialis* se desarrolló partiendo del estadio hematocístico, el cual eclosionó a los estadios vegetativos de zoospora y palmella; que son las formas fotosintéticas. *H. pluvialis* fue estresada por falta de nutrientes y el efecto del cloruro de sodio y acetato de sodio como precursores al estrés carotenogénico. Como medida de

corroboración se observó por microscopía óptica la biosíntesis de compuestos carotenoides (pigmentos naranja-café-rojo). Finalmente, se cuantificó la actividad antioxidante a la biomasa correspondiente a los 4 periodos de estrés (Figura 1). Indicando que el estadio cístico (periodo 4) fue el que presentó la mayor actividad antioxidante con un valor de $105.2 \pm 1.8 \mu\text{M}$ TEAC (por sus siglas en inglés: Trolox Equivalent Antioxidant Capacity), lo que señala que en este estadio (cístico) es posible obtener actividad antioxidante previa a la del estadio hematocístico (fase comúnmente usada en la producción de astaxantina) en la cual se requiere tratamientos fisicoquímicos de ruptura celular que incrementan el costo del proceso.

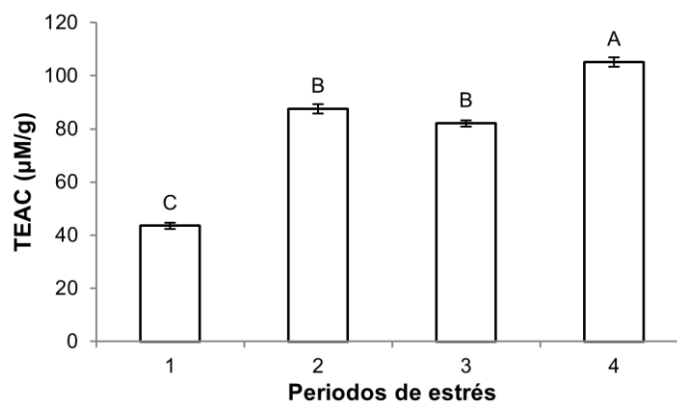


Figura 1.- Actividad antioxidante en distintos periodos de estrés de los carotenoides totales de *H. pluvialis*

Conclusiones

Los cistos de *H. pluvialis* presentan resistencia al lavado y/o desinfección con hipoclorito de sodio al 6% como agente microbicida, por lo que se puede contemplar como un método de purificación de la cepa. *H. pluvialis*. El método Bligh y Dyer resultó eficiente en la extracción de pigmentos carotenoides de *H. pluvialis*. La mayor producción de carotenoides así como la mayor actividad antioxidante se observó en el estadio cístico.

Agradecimiento

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por su apoyo para con la beca para la realización de este proyecto; así como al PAICYT por el apoyo recibido al proyecto: "Obtención de condiciones óptimas para la producción de astaxantina de *Haematococcus pluvialis* a nivel de laboratorio y planta piloto" clave CT290-15

Referencias

- Gilaberte, Y. Novedades en fotoprotección. *Actas Dermo-Sifiliograficas*, 101(8),2010; pp 659-672
- Papazi, A., Makridis, P., & Divanach, P. *Harvesting Chlorella minutissima* using cell coagulants. *Journal of Applied Phycology*, 22(3), 2010; pp 349-355.
- Bligh, E.G. and Dyer, W. J. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37(8). 1959