

Obtención, masificación y liofilización de protistas thraustochytridos nativos y/o modificados como fuente de ácidos grasos esenciales (PUFAs) alternativos y/o complementarios al aceite de pescado.¹

Convenio N° 013-FINCYT-FIDECOM-PIPEA-2013

Elaborado por: Efrain Cayra Huanca

Email: ecayra@marinazul.com

ecayra@gmail.com

Resumen:

Con la finalidad de buscar una fuente alternativa y/o complementaria al aceite de pescado que produzca PUFAs con alto contenido de ácido docosaheptaenoico (DHA), la empresa Marinazul S.A realizó el aislamiento, masificación y liofilización de unos protistas llamados thraustochytridos en asociación con la UNT, UPCH y las empresas Copeinca e Inversiones Silma. La ejecución del proyecto se realizó durante el periodo 2013-2015, contando con el financiamiento del Programa Nacional de Innovación para la Competitividad y Productividad (Innóvate Perú).

Los thraustochytridos son en la actualidad la mejor alternativa al aceite de pescado, siendo considerados SCO (Single Cell Oils) por su alto contenido lipídico, con una proporción alta de PUFAs como el DHA. Es por esa razón que se realizó la búsqueda de estos microorganismos en los manglares de Tumbes, logrando aislar por primera vez en el Perú estos microorganismos, los cuales fueron caracterizados molecularmente y lipídicamente, encontrando géneros representativos de esta familia (Aurantiochytrium, Parietichytrium, Botryochytrium y Ulkenia), además la mayoría produce PUFAs de interés como DHA, EPA y ARA.

Posteriormente se escogieron cinco cepas de interés, por su alta producción en biomasa y contenido de DHA (~40% de ácidos grasos totales), realizando ensayos para optimizar su cultivo a mayor escala, evaluando medios de cultivo de bajo costo y de fácil disposición, obteniendo mejores resultados con la melaza, además se optimizaron los parámetros del cultivo. El producto obtenido se liofilizó para su conservación.

Palabras clave: Thraustochytridos, SCO, PUFAs, DHA, Aceite de Pescado, Innóvate Perú.

Resultados del proyecto:

1. Se obtuvo un cepario de 177 Thraustochytridos identificados molecularmente (especie y genero) y caracterizados lipídicamente (PUFAs).
2. Se elaboró un protocolo de caracterización molecular.
3. Se elaboró un protocolo de caracterización lipídica.
4. Se elaboró un protocolo de medio de cultivo y parámetros fisicoquímicos para la masificación y producción de lípidos de las cepas de Thraustochytridos seleccionados.
5. Se dispone de 05 cepas de Thraustochytridos seleccionadas en función de su perfil lipídico adaptadas al proceso de masificación.
6. Se elaboró un protocolo de liofilización de cepas de Thraustochytridos nativos
7. Se elaboró un manual de procedimientos para la producción a mayor escala.

Problema existente:

Disminución de la Anchoqueta como recurso natural, por la demanda de su aceite como fuente de PUFAs.

Objetivo central del proyecto:

Obtención, masificación y liofilización de protistas Thraustochytridos nativo y/o modificado como fuentes de PUFAs alternativos y/o complementarios al aceite de pescado

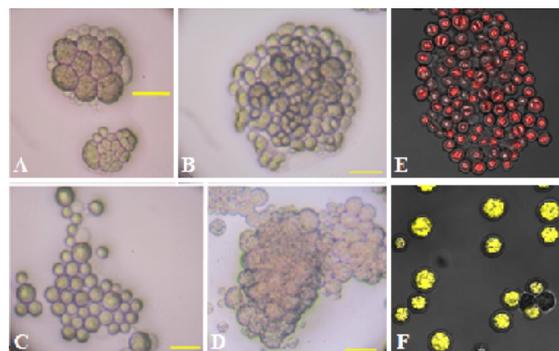


Fig. 1. Diferentes Morfologías de las cepas aisladas (A-D), detección por fluorescencia de los Thraustochytridos: Pared sulfatada (E) y la producción de lípidos (F).

Hipótesis planteada en el proyecto:

La obtención de PUFAs de los protistas Thraustochytridos, será una alternativa y/o complemento al aceite de pescado.

Metodología implementada en el proyecto:

1. Para el aislamiento de los Thraustochytridos se utilizó granos de polen como cebo y para evitar la contaminación de bacterias se utilizaron dos antibióticos (Ampicilina y Estreptomina), el proceso de purificación se realizó en medio sólido mediante la observación de colonias con un microscopio de Luz (Fig. 1A-D).
2. La detección de estos microorganismos fue realizado en un microscopio confocal a barrido laser con la ayuda de fluorocromos (Red Nilo para la detección de sus

¹ El proyecto se ejecutó en TUMBES, Perú desde mayo del 2013 y fue co-financiado por el Programa de Nacional de Innovación para la Competitividad y Productividad (Innóvate Perú) del Ministerio de la Producción, la(s) empresa(s) participante(s) en el proyecto y/o entidad(es) académica(s).

paredes sulfatadas y Acriflavina para la detección de cuerpos lipídicos) (Fig. 1 E-F).

- La caracterización molecular fue realizada mediante la amplificación de la pequeña subunidad ribosomal 18S ARNr con iniciadores específicos para estos microorganismos, los amplicones obtenidos (Fig. 2) fueron enviados a secuenciar. La identificación se realizó mediante el análisis de nuestros resultados del secuenciamiento, con el programa BLAST que compara nuestros resultados con secuencias disponibles en la base de datos del banco de genes
- Para la caracterización lipídica, primero se realizó la extracción de lípidos mediante el método de Bligh and Dyer, posteriormente se procedió a la preparación de la muestra para su análisis en el espectrómetro de masas MALDI TOF TOF, cuyos resultados fueron procesados en el software Simlipid para su identificación (Fig. 2)
- De los resultados obtenidos, se eligieron cepas de acuerdo a su mayor biomasa y producción de DHA, para la masificación de estos microorganismos a mayor escala. Procediendo a buscar y optimizar un medio de cultivo de bajo costo con insumos de alta disponibilidad, además se optimizó los parámetros físico-químicos del cultivo (Fig. 3).

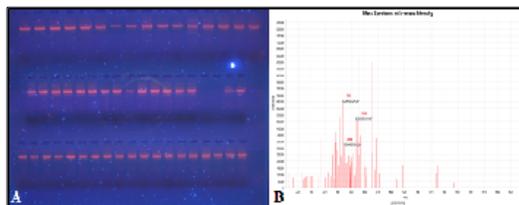


Fig. 2. En el lado izquierdo, los amplicones obtenidos de los thraustochytridos, en el lado derecho el espectro obtenido del análisis con el MALDI TOF TOF.

Conclusiones del proyecto:

Este es el primer reporte de thraustochytridos en los manglares del Perú, lo cual es un aporte más al conocimiento de la biodiversidad en nuestro País. Además la constitución de un cepario con microorganismos altamente potenciales, sirve de base para posteriores estudios para su aplicación biotecnológica.

La domesticación de cepas productoras de PUFAs con alto porcentaje de DHA, hace incursionar a nuestro País al desarrollo biotecnológico de esta fuente alternativa al aceite de pescado.

Impactos del proyecto:

- **Impacto económico:** El aceite de pescado tiene alrededor de 12% de DHA, los Thraustochytridos en condición

óptima producen alrededor de 40% de DHA, considerando la demanda de esta PUFA, este proyecto deberá conducir a una nueva fuente de divisas.

- **Impacto social:** La producción de Thraustochytridos, para la obtención de PUFAs, generará nuevas fuentes de trabajo calificado en sus diferentes etapas del proceso.
- **Impacto ambiental:** Es uno de los impactos de mayor importancia, ya que se espera lograr la sostenibilidad de la explotación de la Ancholeta y su conservación, considerando la alternativa y/o complemento de PUFAs obtenido de los Thraustochytridos, además la posible bioprospección de estos microorganismos en los manglares contribuya al conocimiento y conservación de este recurso.



Fig. 3 – Proceso de masificación de las cepas de interés: 50 ml (A), 2 litros (B) y 15 litros (C)

Financiamiento del proyecto:

El proyecto tuvo una duración programada de 48 meses con un presupuesto total de S/. 613,235.18 nuevos soles financiado con recursos del estado peruano y de la empresa ejecutora según el cuadro siguiente:

Fuente de financiamiento	Porcentaje
Marinazul S.A.	25.09%
Inversiones Silma S.A.C	2.13%
Universidad Nacional de Tumbes	0.49%
Universidad Peruana Cayetano Heredia	3.42%
Copeinca S.A.	0.18%
Programa Nacional de Innovación para la Competitividad y productividad (Innovate Perú)	68.68%

El presente Resumen Ejecutivo de Proyecto fue elaborado por el Coordinador General del Proyecto y editado por el Programa de Nacional de Innovación para la Competitividad y Productividad (Innovate Perú) con fines informativos.

Para mayor información sobre el proyecto contactarse con:

Sr. EFRAÍN CAYRA HUANCA; Coordinador General del Proyecto. e-mail: ecayra@marinazul.com; ecayra@gmail.com
Entidad: MARINAZUL S.A. / Celular: 996-990-350