

ANÁLISIS CINÉTICO Y ESTEQUIOMÉTRICO EN LA PRODUCCIÓN DE 1,3-PROPANODIOL POR *Lactobacillus reuteri* NRRL B-14171

Ramiro, Baeza Jiménez¹; L. Xochitl, López-Martínez; J. Joel, Espinosa de los M.-Fernández y Hugo S, García Galindo. UNIDA - Instituto Tecnológico de Veracruz, M.A. de Quevedo N° 2779 Veracruz, Veracruz. 91897 México. Fax: 01-229-934-5701 ext. 230. Correo electrónico: mcramiro_bj@hotmail.com¹

Palabras clave: 1,3-PDO, *L. reuteri*, estequiometría

Introducción. La disminución de las fuentes de energía no renovables y el aumento en el costo de extracción lleva a buscar alternativas renovables para satisfacer las necesidades actuales y futuras de combustibles y materias primas para la industria. El biodiesel destaca en su actual aprovechamiento no solo como sustituto/complemento del diesel de petróleo, sino también por la obtención de glicerol, el cual se puede transformar en productos con un valor superior, como el 1,3-Propanodiol (1,3-PDO).

El objetivo del presente trabajo fue desarrollar un estudio cinético y estequiométrico de la producción de 1,3-PDO para caracterizar la cofermentación de glucosa y glicerol por *L. reuteri* NRRL B-14171.

Materiales y métodos. La cepa NRRL B-14171 se propagó en medio MRS a 37 °C y pH de 5.5. Se emplearon inoculos del 10 % tanto para matraces como para fermentador. Los matraces se mantuvieron en una cámara con agitadora orbital y en el fermentador se controló el pH, temperatura, agitación y la formación de espuma. El crecimiento celular se determinó por mediciones de densidad óptica (600 nm) y peso seco. Los substratos y productos se analizaron por HPLC, utilizando un detector del índice de refracción y una columna aminex HPX-87H a 50°C, fase móvil 5 mM H₂SO₄ a un flujo de 0.6 ml/min. Se evaluaron los efectos de la edad del inoculo (4, 6 y 8 h), temperatura (8, 25 y 37 °C) y concentración inicial de glucosa/glicerol (20 – 200/60 – 200 mM).

Resultados y discusión. *L. reuteri* es una bacteria probiótica que presenta una fermentación heteroláctica por la vía de la transacetolasa, produciendo acetato, lactato, etanol y CO₂. Las coenzimas reducidas producidas se utilizan en la producción de etanol, sin embargo, en presencia de glicerol, este puede ser usado como aceptor final de electrones en lugar de etanol, por lo que se muestra una competencia entre ambas rutas. El piruvato es entonces convertido preferentemente en acetato con una ganancia superior de ATP. El catabolismo de la glucosa genera los NADH⁺H⁺ necesarios para reducir el glicerol a 1,3-PDO, teniendo como intermediario al 3-HPA (reuterina). A medida que se incrementa la concentración de glucosa y manteniendo constante la concentración de glicerol (200 mM) la producción de

1,3-PDO incrementaba, al igual que μ_{max} (Tabla 1). La máxima producción alcanzada de 1,3-PDO fue de 221.18 mM (16.81 g/l) en la cofermentación 100 mM glucosa/200 mM glicerol a nivel matraz. Se observó en las distintas cinéticas el efecto inductor que el glicerol mismo ejerce sobre las enzimas que controlan su metabolismo (regulon *dha*). Finalmente se realizó la producción de 1,3-PDO en condiciones controladas empleando un fermentador de 1.5 L alcanzando una producción de 377.49 mM (28.7 g/l) en una cofermentación de 200 mM glucosa/400 mM glicerol a pH 5.5, 37°C, 200 rpm durante 16 h en anaerobiosis.

Tabla 1. Parámetros cinéticos y estequiométricos de cofermentación a 200 mM de glicerol

PARAMETRO	36 mM glucosa	83 mM glucosa	100 mM glucosa	200 mM glucosa
X (g/L)	0.81	1.99	2.66	2.52
μ_{max} (1/h)	0.1	0.24	0.22	0.29
1,3-PDO (mM)	21.05	145	221.18	106.84
P _{1,3-PDO} (mM 1,3-PDO/L-h)	0.1	0.69	1.05	0.51
Y _{1,3-PDO/gli} (mM 1,3-PDO/mM gli)	0.15	0.89	0.9	1.16
Flux 1,3-PDO (mM 1,3-PDO/gX-h)	2.88	14.24	8.3	12.46
Balance de Carbono	0.83	0.92	1.01	0.85
Balance REDOX	1.5	1.15	1.06	0.92

Conclusiones. *L. reuteri* tienen una capacidad fermentativa versátil resultado de un metabolismo que le permite acoplarse a diferentes circunstancias. En cofermentación glucosa/glicerol a nivel fermentador se alcanzó una producción de 28.7 g/L de 1,3-PDO y 4.5 g/L de biomasa, que puede ser utilizada como producto probiótico.

Agradecimientos. A CONACYT por la beca – crédito para el desarrollo de la presente investigación.

Bibliografía

[1] Biebl H, Menzel K, Zeng A.-P, Deckwer W.-D (1999). Microbial production of 1,3-propanediol. *Appl Microbiol Biotechnol* (52): 289-297

[2] Talarico T.L., Axelsson L., Novotny J., Fiuza M. and Dobrogosz W.J. 1990. Utilization of glycerol as hydrogen acceptor by *Lactobacillus reuteri*: Purification of 1,3-propanediol:NAD⁺ oxidoreductase. *Applied and Environmental Microbiology*. 56: 943-948.