



# XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



## EFECTO DE LA FUENTE DE CARBONO EN EL CRECIMIENTO DE *Escherichia coli* TOP10 pQR239 Y SU ACTIVIDAD CATALÍTICA EN ESTUDIOS DE BIOCONVERSIÓN.

María Elizabeth Anzures Ramos, Rodrigo Melgarejo Torres, Sergio Huerta Ochoa, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad-Iztapalapa, Departamento de Biotecnología, México, Distrito Federal, C.P. 09340, sho@xanum.uam.mx

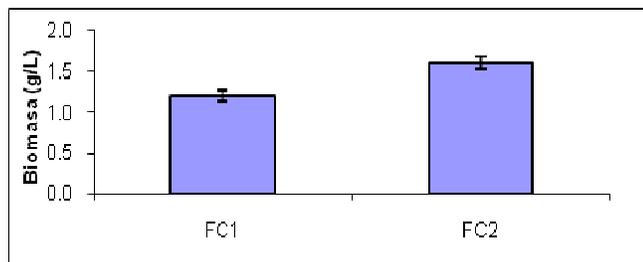
**Palabras Clave:** *Escherichia coli* TOP10 pQR239, bioconversión Baeyer-Villiger.

**Introducción.** Las bio-reacciones enzimáticas tipo Baeyer-Villiger utilizando ciclohexanona monooxigenasa (CHMO) pueden llevarse a cabo con células completas como la cepa *Escherichia coli* TOP10 pQR239, debido a que se requiere la regeneración *in situ* del cofactor (NADPH)<sup>1</sup>. Un factor importante en el crecimiento celular y la expresión de la CHMO es la fuente de carbono.

El objetivo del trabajo es estudiar el efecto de la fuente de carbono en el crecimiento de *E. coli* TOP10 pQR239 y su actividad catalítica a través de la tasa específica de consumo de sustrato en la bioconversión.

**Metodología.** Se usó el medio de cultivo reportado por Doig y col.<sup>1</sup> Buffer de fosfatos de sodio 50 mM, pH 7; 10 g/L de: NaCl, triptona de peptona, extracto de levadura y ampicilina 100 mg/L. Las fuentes de carbono fueron glucosa (FC1) y glicerol (FC2) a 10 g/L. La producción del biocatalizador se realizó según Torres-Martínez<sup>2</sup>. Para la bioconversión, se utilizó una concentración de biocatalizador de 1 g<sub>b</sub>/L; como medio de reacción: buffer de fosfato de sodio 50 mM a pH 7 y 5 g/L de glicerol en un mini biorreactor de 20 mL con agitación magnética, 30°C y 1 vvm. Se adicionó un pulso de 0.5 g/L de sustrato y se tomaron muestras cada 3 min durante los primeros 15 min, posteriormente cada 30 min; el sustrato y producto se cuantificó por cromatografía de gases<sup>3</sup>.

**Resultados.** En la Figura 1, se observa que con el medio FC1 la producción de biomasa fue de 1.2 g<sub>b</sub>/L y con el medio FC2 fue 1.6g<sub>b</sub>/L.



**Fig. 1.** Efecto de la fuente de Carbono en el crecimiento de *E. coli* TOP10 pQR239.

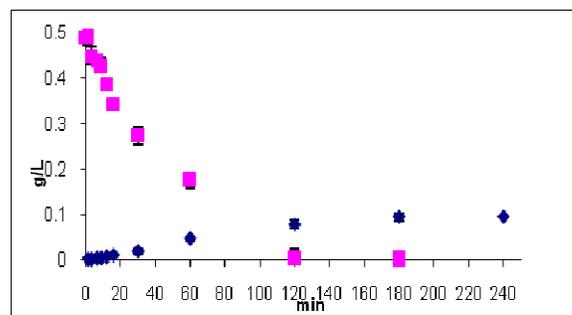
En la Tabla 1, se presentan los datos de actividad catalítica mediante las tasas específicas de bioconversión utilizando el biocatalizador producido con los medios FC1 Y FC2. Los resultados obtenidos se compararon con lo reportado por Melgarejo<sup>3</sup> utilizando un

medio definido. Se observa que la actividad catalítica se incrementó un 16% y 54%, respectivamente.

**Tabla 1.** Comparación de la actividad del biocatalizador en la bioconversión.

Medios estudiados	Tasa específica (g <sub>b</sub> /g <sub>s</sub> h)	Incremento
Definido (3)	0.031 (±0.0023)	
FC1	0.036 (±0.0078)	16 %
FC2	0.048 (±0.0093)	54 %

En la Figura 2 se presenta una cinética de bioconversión. Se observa que en dos horas se obtiene una conversión de sólo el 20%, debido probablemente a la evaporación del sustrato.



**Fig. 2.** Cinética de bioconversión de *Escherichia coli* TOP10 pQR239.

**Conclusiones.** FC2 resultó ser el mejor medio para la producción de biomasa y para la actividad catalítica del biocatalizador. La evaporación del sustrato debido a la aireación en la cinética de bioconversión sólo permitió un 20% de conversión.

**Agradecimiento.** Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el financiamiento del proyecto SEP-CONACyT-2007-80847.

### Bibliografía.

1. Doig S., O'Sullivan M., Patel S. and Ward J. 2001. Large scale production of cyclohexanone monooxygenase from *Escherichia coli* TOP10 pQR239. *Enzyme and Microbial Technology*, Vol. 28: 265–274.
2. Torres-Martínez. 2010. Biotransformación de cetonas cíclicas empleando líquidos iónicos en un biorreactor de partición. Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma Metropolitana.
3. Melgarejo R. 2010. Análisis de régimen de un biorreactor de partición de tres fases mediante la determinación de tiempos característicos. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Metropolitana.