



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



DISEÑO DE UN REACTOR PARA LA PRODUCCIÓN CONTINUA DE L-TIROSINA EMPLEANDO CÉLULAS DE *Citrobacter freundii* INMOVILIZADAS EN ALCOHOL POLIVINÍLICO.

Saray Berlanga Tovar, Gerardo de J. Sosa S., Julio C. Montañez, Gerardo Lara C y Yolanda Garza García*.

Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila.

Blvd. V. Carranza y José Cárdenas V., Col. República Ote. C.P. 25280, Tel. (844) 415-57-52, Saltillo, Coahuila. Email: ygarza@uadec.edu.mx

Palabras clave: Reactor, *C. freundii*, L-tirosina.

Introducción. La tirosina es un aminoácido de amplio uso en la industria alimentaria y farmacéutica^{1,2}. Se requiere para hacer varios neurotransmisores, tales como L-DOPA, dopamina, epinefrina, etc., requeridos para regular funciones cerebrales, la L-tirosina y sus derivados aromáticos se utilizan en las medicaciones primarias para el tratamiento de enfermedades como Basedow y Parkinson⁴. Este aminoácido puede ser sintetizado por la acción catalítica de la enzima tirosinfenoliase (TFL), presente en el microorganismo *Citrobacter freundii*³. El objetivo del presente trabajo fue diseñar un bio-reactor para la producción de L-tirosina, empleando células de *C. freundii* inmovilizadas en alcohol polivinílico, considerando la problemática que presenta la síntesis continua del aminoácido, debido a que precipita durante la reacción.

Metodología. Las células de *C. freundii* fueron obtenidas por propagación en matraces Erlenmeyer, incubándose a 32°C por 12 horas; posteriormente las células fueron separadas por centrifugación, el paquete celular se suspende en buffer de fosfatos y se determina el contenido de proteína. Las células se inmovilizan en PVA preparado por entrecruzamiento y adicionado con alginato de sodio, estas células inmovilizadas se ponen en contacto durante 2.5hrs con el sustrato (fenol 0.09M, acetato de amonio 0.45M y piruvato de sodio 0.12M a pH 8.5), en un reactor batch a 35°C. El diseño del reactor está enfocado a que las células realicen la función deseada con gran eficiencia bajo condiciones óptimas. Las ecuaciones de diseño y aspectos tales como: maximizar el rendimiento y la producción, minimizar el gasto y los costos de producción y reducir al máximo el tiempo, esto conlleva a lograr un prototipo para la realización integrada del modelo

Resultados. Del proceso discontinuo se determinó: cantidad de proteína, % de proteína inmovilizada, velocidad inicial de la reacción tiempo de formación del producto y actividad enzimática. $[Proteína]=0.2024 \text{ mg ml}^{-1}$, 98% de proteína inmovilizada, $V_o = 3 \times 10^{-4}$, $t_{(formación)} = 40 \text{ min}$, $A.E.=1.48 \times 10^{-4} \text{ mol mg}^{-1} \text{ min}^{-1}$.

La figura 1. Muestra el diseño del bio-reactor para la síntesis continua del aminoácido. Este reactor en una

columna de platos, para un proceso adiabático, de flujo descendente, enchaquetado, consta de 11 platos con una capacidad de 12 ml cada uno, dentro de los cuales estarán las esferas con el biocatalizador. Con una velocidad de alimentación de $2 \text{ ml}(\text{min}^{-1})$ y un tiempo de retención de 50 min. La mezcla reaccionante se alimentara a condiciones controladas de: temperatura 35°C y pH=8.5

Conclusiones. Se logró determinar la actividad enzimática de células inmovilizadas en el proceso en batch y comparándose con células libres esta fue mejor, aunque la reacción fue más lenta, mediante el diseño y modelamiento del reactor se logrará una producción optimizada y continua del aminoácido.

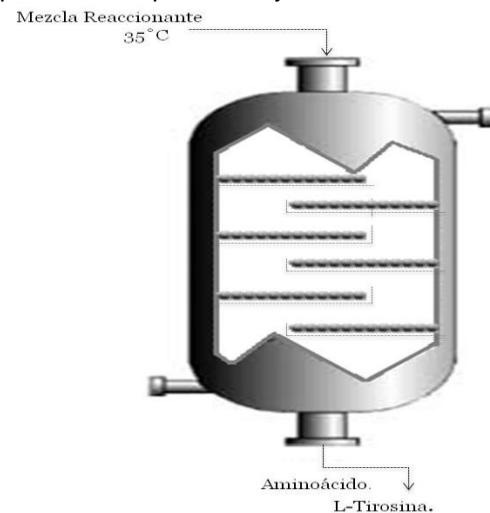


Figura 1.

Bibliografía.

- 1) Enei, H., H. Matsui, K. Yamashita, S. Okura and H. Yamada. 1972. Distribution of tyrosine phenol lyase in microorganisms. *Agric. Biol. Chem.* 36(11):1869-1876.
- 2) Kim, Do Young, Moon-Hee Sung, and Seung-Goo Lee 2006. Development of Bioreactor System for L-Tyrosine Synthesis Using Thermostable Tyrosine Phenol-Lyase.
- 3) Rodriguez M. J., I. V. Tyschnaya, V. I. Yakovleva and I. V. Berezin. 1986. Some kinetics regularities of Tyrosine synthesis catalized by free and immobilized bacterial cells. Effect of mass transfer of reactants on the kinetics of tyrosine phenol-lyase. *URSS Academic of Science. Appl. Biochem. Microbiol.* 51: 1763-1775.
- 4) Sosa S. G., 2001. Caracterización cinética de la reacción Tirosinfenoliase catalizada por células de *Citrobacter freundii* para la síntesis del aminoácido L-3,4-dihidroxifenilalanina (L-DOPA)