

ESTUDIO CINÉTICO DE LA PRODUCCIÓN DE ÁCIDO PIRUVICO POR *Yarrowia lipolytica*

M.P. Ríos Gutiérrez, J.L. Nuño Ayala, C. Pelayo Ortiz, R.I. Corona González, J.A. Jáuregui, V. González Alvarez

Universidad de Guadalajara, Blvd. Marcelino García Barragán # 1451 Guadalajara, Jalisco
Correo electrónico: cpelayo@ccip.udg.mx

Palabras clave: *Acido pirúvico, Yarrowia lipolytica, estudio cinético*

Introducción: El ácido pirúvico es ampliamente utilizado en la industria farmacéutica, química, cosmética y en la síntesis de aminoácidos. La producción de ácido pirúvico se realiza por vía química, sin embargo, diferentes microorganismos pueden producirlo mediante el uso de materias primas baratas, bajo condiciones de operación más suaves, con un mayor grado de pureza y altos rendimientos.

El objetivo de este trabajo es probar diferentes concentraciones de nutrientes (glucosa, nitrógeno, tiamina) y condiciones fisicoquímicas (temperatura, pH, pO₂) que favorezcan el desarrollo de la levadura *Yarrowia lipolytica* y permitan obtener altas concentraciones de ácido pirúvico.

Metodología: Se utilizó la levadura *Yarrowia lipolytica* CBS 6317 de la colección DELFT (NL). El medio de cultivo utilizado es el descrito en la patente de Ajinomoto (1974) (1). Se realizaron fermentaciones en viales de 500 mL para el estudio de la concentración de glucosa (10, 20, 30, 40, 50 y 100 g/L), nitrato de amonio (0, 1.25, 2.5 y 5 g/L) y tiamina (10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵, 10⁻⁶, 10⁻⁷ y 10⁻⁸ g/L). El estudio de las condiciones fisicoquímicas (temperatura, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, y 33 °C; pH, 3, 5 y 7 y pO₂, 20, 30, 40, 50, 60, 70 y 80 %) se llevó a cabo en un reactor LSL Biolafitte de 2 litros. La concentración de glucosa residual se determinó utilizando un Kit PAP 250 de Bio Merieux, la concentración de los ácidos orgánicos (pirúvico y α-cetoglutarico) por cromatografía líquida y la biomasa por peso seco y densidad óptica.

Resultados y discusión: La velocidad de consumo de glucosa q_{smax} aumentó al incrementar la concentración inicial de glucosa. La velocidad de crecimiento μ_{max} fue el parámetro más afectado al aumentar la concentración de este sustrato carbonado. Las dos velocidades específicas (q_{smax} y μ_{max}), el rendimiento celular (Y_{x/s}) y la concentración celular aumentaron al incrementar tanto la concentración de nitrógeno inicial como de la tiamina inicial en el medio de cultivo. La tabla 1 presenta los mejores resultados obtenidos del estudio de cada uno de los nutrientes probados.

Tabla 1. Parámetros cinéticos de *Yarrowia lipolytica*

	q _{smax} (g/g h)	μ _{max} (h ⁻¹)	Biomasa (g/L)	Y _{x/s} (g/g)
Glucosa (50 g/L)	0.87	0.13	12	0.24
NH ₄ NO ₃ (5 g/L)	1.00	0.13	14.7	0.29
Tiamina (10 ⁻³ g/L)	1.80	0.18	17.1	0.27

El estudio de las condiciones fisicoquímicas se llevó a cabo utilizando las concentraciones de glucosa, nitrato de amonio y tiamina indicadas en la tabla 1. Los parámetros cinéticos μ_{max}, q_{smax}, y Y_{x/s} aumentaron proporcionalmente al incrementar la temperatura inicial hasta un valor de 30 °C, después estos decrecieron rápidamente. Todos los parámetros cinéticos y la concentración celular final fueron mejores a pH 5. El crecimiento celular fue más importante a mayor concentración de oxígeno disuelto en el reactor, el mejor rendimiento de producción de biomasa (Y_{x/s} = 0.4 g/g) y la mejor concentración celular (20 g/L) se obtuvieron a una pO₂ del 80% (pH 5 y 30 °C). Con las concentraciones y condiciones ambientales anteriores la levadura produjo (después de lavar las células y cultivarlas en un medio ausente de tiamina) 18.9 g/L de ácido pirúvico y 4.75 g/L de ácido α-cetoglutarico al término de 100 horas (ver figura 1). Los rendimientos glucosa/ácido pirúvico (Y_{AP/S}) y glucosa/ácido α-cetoglutarico (Y_{AαC/S}) de este experimento fueron respectivamente 58.8 y 14.7 g/g, valores superiores a los reportados en la literatura (2).

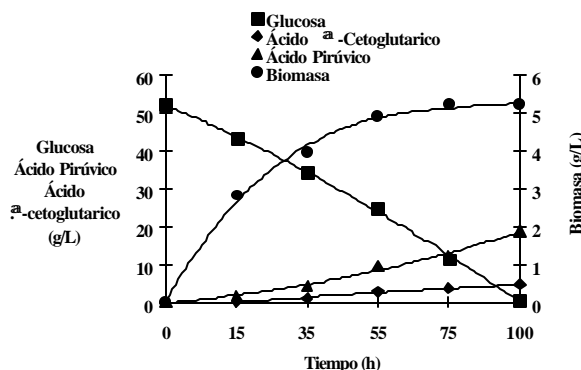


Figura 1. Perfil fermentativo de *Yarrowia lipolytica*.

Conclusiones: Los resultados de este estudio sugieren que esta vía de producción del ácido puede competir con la vía química actual. Los costos de producción del ácido pueden disminuirse considerablemente utilizando fuentes de carbono renovables (melazas de caña, hidrolizados de almidón) y optimizando la etapa de producción.

Bibliografía: (1) Ajinomoto (1974). Patente Japonesa N°7477960 (2) Sahut, C (1987). Tesis de Doctorado Universidad de Marsella II, Francia.