

COMPARACIÓN DE CRECIMIENTO Y PERFIL DE PRODUCTOS DE FERMENTACIÓN DE *Escherichia coli* CON GLICEROL Y GLUCOSA

María de los Ángeles Martínez García, Luz María Martínez Mejía, Luis Caspeta, Alfredo Martínez Jiménez.
Departamento de Ingeniería Celular y Biocatálisis, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México. Av. Universidad 2001, Cuernavaca, Morelos, C.P. 62210. mangeles@ibt.unam.mx

Palabras clave: Glicerol, caracterización, ácido succínico

Introducción. El glicerol constituye el principal residuo generado en la industria del biodiesel. Debido a que ésta ya se ha consolidado en muchos países y se espera su expansión geográfica (1), es preciso contar con una herramienta útil y eficaz que permita el aprovechamiento del glicerol como materia prima para procesos biotecnológicos. Mediante fermentaciones es posible obtener, a partir de glicerol, compuestos de valor agregado como los obtenidos en la fermentación ácido-mixta. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue caracterizar a la cepa silvestre *E. coli* MG1655 (DE3) bajo condiciones sin aireación usando glicerol como fuente única de carbono, así como su comparación con el metabolismo anaerobio de glucosa.

Metodología. A partir de la cepa silvestre MG1655 (DE3) sembrada en medio Luria (LB), se tomó una colonia y se cultivó por 5 h a 37 °C y 300 rpm en tubo de ensayo con 4 mL de LB. Para generar el inóculo, se vertió el contenido del tubo en un minifermentador conteniendo 200 mL de medio mineral AM1 con 20 g/L de glicerol o glucosa. El inóculo se realizó a 37 °C, 150 rpm, sin aireación y a pH 6.3 controlado con una mezcla 1:1 de NaOH 4 M y Na₂CO₃ 2 M hasta llegar a una D.O.₆₀₀ de 0.8 – 1.0. Se tomó el volumen necesario para iniciar el cultivo en los minifermentadores de evaluación a una D.O.₆₀₀ de 0.1. La cepa se cultivó en 200 mL de medio AM1 con 40 g/L glicerol o glucosa a 37 °C, 150 rpm, sin aireación y pH controlado a 6.3. Los cultivos se realizaron por triplicado. Las D.O se determinaron a 600 nm en un espectrofotómetro. La determinación de los metabolitos producidos se llevó a cabo por HPLC.

Resultados. El crecimiento, consumo de sustrato, producción de metabolitos, velocidad de crecimiento y rendimiento biomasa/sustrato de la cepa MG1655 (DE3) se presentan en la figura 1 y tabla 1. Como se observa, *E. coli* consume 15 g/L de glicerol en 7 días, mientras que con glucosa consume los 40 g/L en 2 días, la velocidad de crecimiento es 8 veces mayor en glucosa; esto concuerda con lo reportado por Maeda *et al.*, en 2018 (2), quienes caracterizaron varias cepas de *E. coli* para el metabolismo de glicerol. Estos resultados indican una capacidad limitada en el metabolismo de glicerol en condiciones de fermentación debido a la falta de un aceptor final de electrones exógeno (3) y, probablemente, a la falta de otros metabolitos requeridos como precursores de componentes de la biomasa. No obstante, el rendimiento biomasa/sustrato basado en el consumo de la fuente de carbono es similar para ambos sustratos.

El perfil de productos mayoritarios de fermentación entre glucosa y glicerol cambió. Para la primera, se formó principalmente lactato seguido de formiato y acetato; mientras que con glicerol los dos productos principales fueron formiato y etanol, y como coproductos secundarios succinato y acetato, sin producción de lactato. El análisis de este comportamiento muestra que el grado

de reducción del glicerol y las vías iniciales de su catabolismo, en comparación al de glucosa, generan una distribución molar de productos de fermentación ácido-mixta muy diferente y que esta distribución permite sugerir el uso de glicerol y técnicas de ingeniería metabólica sobre *E. coli* para la construcción de cepas homo-productoras de etanol y succinato, y el uso de glucosa para producir lactato.

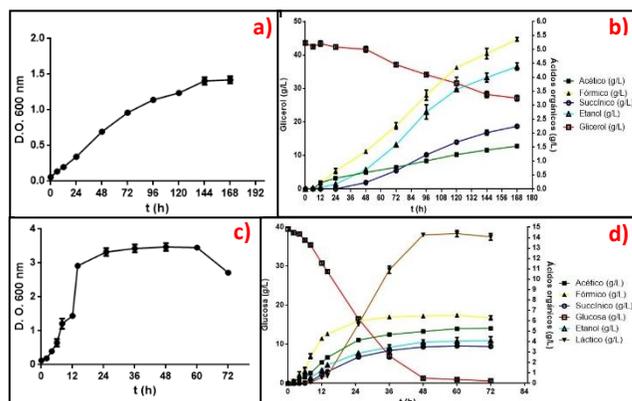


Fig. 1. Crecimiento de *E. coli* MG1655 (DE3) en 40 g/L de glicerol (a) y en 40 g/L de glucosa (c) Consumo de glicerol y producción de metabolitos (b) y consumo de glucosa y producción de metabolitos (d)

Tabla 1. Velocidad de crecimiento (μ) y rendimiento biomasa/sustrato ($Y_{x/s}$) de *E. coli* MG1655 (DE3) en glicerol y glucosa.

Sustrato	μ (h ⁻¹)	$Y_{x/s}$ (g _{CEL} /g _{SUS})
Glicerol	0.038±0.001	0.031±0.002
Glucosa	0.31±0.03	0.025±0.001

Conclusiones. *E. coli* MG1655 (DE3) presenta un crecimiento lento en medio mínimo con glicerol como única fuente de carbono bajo condiciones sin aireación, en comparación con glucosa. Pese a ello, con estrategias de ingeniería metabólica, se podrían obtener cepas de *E. coli* sobreproductoras de etanol u otro metabolito a partir de glicerol, como alternativa para el aprovechamiento de este residuo.

Agradecimientos. Al apoyo otorgado por CONACyT, proyecto FONCICYT ERANet-LAC SMIBIO - C0013 – 248192.

Bibliografía.

- Jantama K *et al.* (2008). *Biotechnol Bioeng*, 99(5): 1140-1153.
- Maeda T *et al.* (2018). *Appl Microbiol Biotechnol*, 102(5): 2041-2050.
- Murarka A *et al.* (2008). *Appl Environ Microbiol*, 74(4): 1124-1135.

