

BIOSINTESIS DEL ACIDO POLI-g-GLUTÁMICO POR *Bacillus licheniformis* ATCC-1 9945

Josefina G. Rodríguez^{1*}, Bibiana Valenciano¹, Antonio Ledezma², Alejandra Oliva¹ y Jorge Romero²

¹Escuela de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Coahuila

²Centro de Investigación y Química Aplicada, Saltillo, Coah.

*Comonfort 721 sur, Torreón, Coah., C.P. 27000

Tel: (1)7127989 Fax: (1) 7168256 E-mail: jgrgenzima@hotmail.com

Palabras clave: Biopolímero, ácido poli-gglutámico, *Bacillus licheniformis*

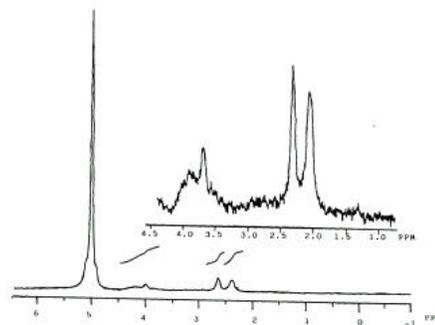
Introducción. En la actualidad, la producción de polímeros de origen natural se ha incrementado considerablemente, debido a que tienen la ventaja de no contaminar por ser biodegradables, permitiendo un equilibrio con el medio ambiente. Los biopolímeros introducidos más recientemente en el mercado son producidos por microorganismos, con características muy específicas que permiten la preparación de termoplásticos e hidrogeles, con un alto potencial de aplicación biomédica (1).

El presente trabajo de investigación tiene como objetivo establecer las condiciones para la biosíntesis del polímero ácido poli- γ -glutámico (APGG) por *Bacillus licheniformis* ATCC-1 9945.

Metodología. Para establecer experimentalmente el inicio de la idiofase (t_1), se realizaron cinéticas de crecimiento del *Bacillus licheniformis* ATCC-1 9945 en condiciones aerobias. El inóculo para la biosíntesis del APGG se obtuvo incubando en medio de propagación (2), a 120 rpm y 37°C, por un tiempo t_1 ; la biomasa se recuperó por centrifugación, resuspendiéndola en glicerol al 20%. Se incubó a 60°C para promover la esporulación, conservándolo a -20°C. Para la biosíntesis del polímero se consideraron dos medios reportados en literatura, el medio GC (3) que contiene biotina y medio E que no la contiene (2), se realizó en condiciones aerobias, a pH 7.5 y 37°C por 70 h. El polímero se extrajo por precipitación con etanol absoluto, posteriormente se dializó y liofilizó. El biopolímero fue identificado mediante resonancia magnética de protones, (RMN-¹H), usando como vehículo agua deuterada.

Resultados y discusión. El análisis de la curva de crecimiento del *Bacillus licheniformis* ATCC-1 9945 obtenida experimentalmente muestra que a las 16 h (t_1) de cultivo se inicia la idiofase, donde el microorganismo está en condiciones de sintetizar metabolitos secundarios como el APGG. En la etapa de biosíntesis se observó, que conforme transcurría la reacción, la viscosidad del medio de producción GC y E se incrementaba en forma considerable debido a la presencia del biopolímero. Los espectros de RMN-¹H del producto obtenido en el medio GC, mostrado en la figura 1, y en el medio E, presentan un doblete entre 1.7 y 2.5 ppm del carbono β y una señal a 4 ppm del carbono α , característicos de la estructura del ácido poli- γ -glutámico (4). La confirmación de la producción del APGG en presencia y ausencia de biotina, indican que no es

esencial para que el *Bacillus licheniformis* ATCC-1 9945 sintetice este polímero, contrario a lo que ocurre en otras bacterias productoras de este metabolito, como el *Bacillus subtilis* IFO 3335 en el que es además factor de crecimiento



(3).

Figura 1. Espectro de RMN ¹H del ácido poli- γ -glutámico producido en medio GC (adicionado con biotina), utilizando como solvente D₂O.

Conclusiones. En el presente trabajo de investigación, bajo las condiciones experimentales planteadas, se logró la producción del ácido poli- γ -glutámico por el *Bacillus licheniformis* ATCC-1 9945 al inicio de la idiofase, establecida a las 16 h, determinándose además que la biotina no es un factor indispensable para la producción del metabolito por este microorganismo.

Bibliografía.

1. Kunioka M. y Hyuk J. (1996). Preparation and swelling equilibria of biodegradable hydrogels prepared from microbial poly (γ -glutamic acid) and poly (ϵ -lysine). *J. Environ. Polymer. Degrad.* 4: 123-129.
2. Leonard C., Hosewriht R. y Thorne C. (1958). Effects of some metallic ions on glutamic polypeptide synthesis by *Bacillus subtilis*. *J. Bacteriol.* 76: 499-503.
3. Goto A. y Kunioka M. (1992). Biosynthesis and hydrolysis of poly (γ -glutamic acid) from *Bacillus subtilis* IFO 3335. *Biosci. Biotechnol Biochem.* 56: 1031-1035.
4. Giannos S., Steven A., Devang S. y Gross R. (1991). The biosynthesis of unusual polyamides containing glutamic acid. *ACS. Polym Prep.* 54: 220-221.