

# MODULACIÓN DE LA ACTIVIDAD ISOCITRATO DESHIDROGENASA DE *Bacillus subtilis* INMOVILIZADO

Enrique Durán-Páramo, Fabián Robles Martínez, José Manuel Muñoz Aguilar y Marco A. Brito Arias.  
Departamento de Bioprocesos, Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología,  
Instituto Politécnico Nacional  
Ave. Acueducto s/n, La Laguna Tic omán, 07340 México, D.F. [eduran@acei.upibi.ipn.mx](mailto:eduran@acei.upibi.ipn.mx)

Palabras clave: *isocitrato deshidrogenasa, inmovilización celular, Bacillus subtilis.*

**Introducción.** La inmovilización celular es una técnica que ha sido utilizada para disminuir los efectos de fenómenos de represión catabólica (1). El proceso de inmovilización provoca modificaciones en el micro-medio ambiente donde los microorganismos se desarrollan. Algunos cambios metabólicos en las células pueden ocurrir (2). El presente proyecto involucra un estudio del potencial de utilización de la inmovilización celular en la modulación de actividades enzimáticas intracelulares de microorganismos. El sistema estudiado involucra la inhibición de la actividad isocitrato deshidrogenasa (ICDH) por el acetato en *Bacillus subtilis* libre e inmovilizado.

**Metodología.** La cepa utilizada en este estudio fue *Bacillus subtilis* ATCC-21556. El medio de cultivo fue el Luria-Bertani suplementado con glucosa. Se utilizó kappa-carragenina (2%) como soporte de inmovilización por inclusión. Se formaron partículas de gel de 3 mm de diámetro conteniendo las células inmovilizadas (3). Se realizaron diferentes cultivos batch y continuos a diferentes tasas de dilución en reactor (1 L, Setric, France) con células inmovilizadas y en suspensión a diferentes concentraciones de glucosa (de 1 a 20 g/l). Se monitoreó la evolución de la biomasa (libre e inmovilizada) de la actividad ICDH (con NADP) y el acetato (HPLC) a intervalos regulares de tiempo.

**Resultados.** Durante el crecimiento de *Bacillus subtilis* se producen diversos ácidos orgánicos, entre ellos el ácido láctico y el ácido acético, además de moléculas aromáticas como el 2,3 butanodiol y la acetoína. Los ácidos orgánicos son excretados al medio de cultivo y posteriormente al término de la fuente de carbono son reconsumidos. El acetato es metabolizado vía el ciclo del glioxilato para la regeneración de material de biosíntesis por medio de la inhibición de la actividad ICDH.

Por medio de cultivos batch de células libres se pudo establecer que la producción de acetato es directamente proporcional a la cantidad de glucosa presente en el medio. Así a mayor cantidad de acetato el efecto inhibitorio sobre la actividad ICDH fue más importante. Mediante cultivos continuos con célula libres y a diferentes tasas de dilución (entre 0.05 y 0.30 h<sup>-1</sup>) se pudo constatar una producción de

acetato casi constante (1 g/l). La máxima actividad ICDH fue de 3.5 unidades/g biomasa a 0.30 h<sup>-1</sup>. Con respecto a los cultivos continuos con células inmovilizadas a diferentes tasas de dilución (Figura 1), se pudo observar que incluso a concentraciones similares de acetato obtenidas en cultivos con células libres, la actividad ICDH fue 5 veces mayor (20 unidades/g biomasa) a la cuantificada en células libres. Estos resultados sugieren que la actividad ICDH de células inmovilizadas presentan una menor sensibilidad al efecto inhibitorio del acetato y que el grado de inhibición puede ser modulado por medio de la utilización de sistemas de células inmovilizadas, así como por las condiciones de cultivo.

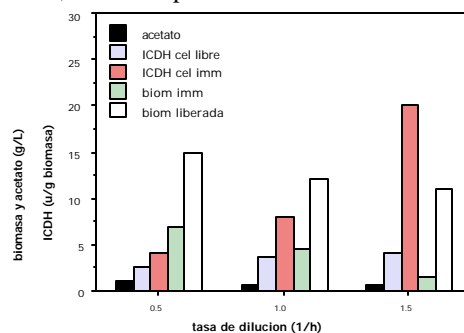


Figura 1.- Monitoreo de la actividad ICDH y de las producciones de acetato y biomasa en *Bacillus subtilis* libre e inmovilizado.

**Conclusiones.** Bajo las condiciones de estudio, las células inmovilizadas presentaron una menor sensibilidad al efecto inhibitorio del acetato sobre la actividad ICDH. La inmovilización celular puede ser utilizada en procesos en donde se presentan fenómenos de inhibición o como herramienta para modular el comportamiento fisiológico de microorganismos asociados a superficies.

**Agradecimientos.** Apoyo financiero de CONACYT en México, de la SFERE y de la Université de Technologie de Compiègne en Francia.

## Bibliografía.

- Durán-Páramo, E. *et al* (2000), *Appl. Biochem. Biotechnol.* **84-86**, 479-485.
- Karel, S.F. *et al* (1985), *Chem. Eng. Sci.*, **40**, 1321-1354.
- Durán-Páramo, E. (1997), PhD thesis, Université de Technologie de Compiègne, France.