

## ESTUDIO DE LA POTENCIALIDAD DE PRODUCCION DE PENICILINA ACILASA DE 9 CEPAS DE HONGOS FILAMENTOSOS

José L Martínez Hdz, Odette Hernández y Julio C Dustet. Sección de Biotecnología Aplicada, Facultad de Ingeniería Química. ISPJAE. Ciudad de la Habana, Cuba. fax: (537) 2-67-29-64.,  
E-mail: martinh@quimica.ispjae.edu.cu

Palabras claves: *Penicilina acilasa*, *biocatalizadores*, *6-APA*

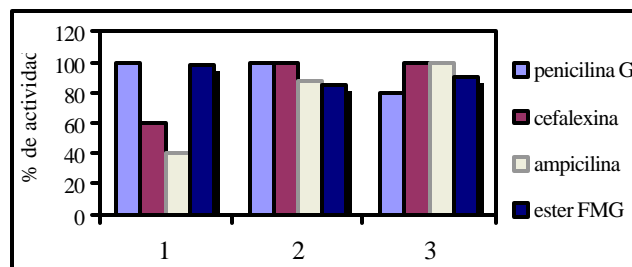
**Introducción.** La penicilina acilasa (penicilina amidohidrolasa EC. 3.5.1.11) cataliza la hidrólisis de penicilina a ácido 6-aminopenicilánico(6-APA). La enzima ha sido encontrada en microorganismos de diferentes grupos de bacterias, levaduras y hongos filamentosos. La acilasa es de gran interés biotecnológico por su gran potencial para el incremento en los rendimientos de 6-APA(1), además de ser empleada eficientemente en la síntesis de antibióticos semisintéticos, es un proceso enzimático complejo y por esto es necesario seleccionar nuevas enzimas que muestren mejores propiedades catalíticas. El objetivo del trabajo es estudiar la influencia de diferentes medios de cultivo y de inductores en cepas tropicales de hongos filamentosos y valorar su potencialidad en la producción de penicilina acilasa.

**Metodología** Las cepas estudiadas fueron aisladas de diferentes fuentes naturales y caracterizadas en los laboratorios del Ins. de los Derivados de Caña de Azúcar (ICIDCA). Los microorganismos fueron crecidos aeróbicamente bajo condiciones sumergidas a 140 rpm y 30°C, en los siguientes medios de cultivo: (Medio I) glucosa 2%, extracto de levadura 3g/L, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2g/L, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 2g/L, pH.6.8; (Medio II) sacarosa 37.5g/L, extracto de levadura 1.25g/L, NaNO<sub>3</sub> 20g/L, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 10g/L, KCL 5g/L, pH.6.8 y (Medio III) Skim milk, pH.6.8(2). Las células fueron removidas por filtración y la actividad enzimática fue determinada en el sobrenadante según el método propuesto por Balasingham y col. 1972(2). Los inductores. penicilina G, ampicilina, cefalexina y ester fenil metil glicina se adicionaron al medio de cultivo al 0.5 g/L a las 24 hrs de fermentación.

**Resultados y Discusión.** La penicilina acilasa es producida extracelularmente por algunos microorganismos en sistemas fermentativos y los niveles de enzima pueden variar dependiendo de la composición del medio y sus aditivos(2).

<i>Aspergillus oryzae</i>	-	-	0.86
<i>Trichoderma haryzianum</i>	-	-	0.97
<i>Trichoderma viridae</i>	0.28	-	-
<i>Trichoderma sp</i>	-	-	-
<i>Mucor griseocyanum</i>	-	-	2.63
<i>Penicillium sp</i>	0.46	-	0.98
<i>Penicillium chrysogenum</i>	0.48	-	2.84

La tabla 1 muestra las cepas empleadas en el estudio y sus respuestas a la producción de acilasa en los



diferentes medios, en presencia de penicilina G como inductor, 5 mostraron actividad acilasa al emplear el medio I, en el medio II no se detectó actividad. Los mayores niveles de penicilina acilasa se obtuvieron al emplear el medio III como única fuente de nutrientes. Las cepas de *M. griseocyanum*, *P.chrysogenum* y *A. fumigatus* presentaron los mejores niveles de actividad (Tabla 1).

Fig. 1.Efecto de los inductores en las cepas con mayor nivel de actividad Penicilina acilasa

Con respecto a los inductores los mayores niveles de expresión en *Aspergillus fumigatus*(1) fueron en presencia de penicilina G y el ester fenilmetilglicina. En el caso de *P.chrysogenum* (2) y *M. griseocyanum*, (3), no hubo diferencia significativa en la expresión por los distintos inductores utilizados(Fig.1).

**Conclusiones.** Los niveles de expresión de las diferentes cepas en los medios conteniendo glucosa y sacarosa en general son bajo o nulos, esto es posiblemente el resultado de los efectos represivos de los azúcares sobre la expresión de la enzima. Los mejores rendimientos de penicilina acilasa se obtuvieron con el medio Skim milk posiblemente porque el medio impone sobre el organismos algún tipo de estrés metabólico que favorece la producción de la enzima, esta expresión enzimática no esta

Tabla1. Respuesta acilasa de los diferentes microorganismos en los medios con glucosa (I), sacarosa(II) y skin milk (III).

Microorganismo	I	II	III
<i>Aspergillus niger</i>	0.26	-	0.49
<i>Aspergillus fumigatus</i>	0.39	-	2.34

asociada al crecimiento. Los resultados muestran que estas cepas de microorganismos pueden tener una gran perspectiva con vista a mejorar sus rendimientos. El diseño adecuado de biocatalizadores y bioreactores catalíticos permitirá utilizar eficientemente estas enzimas en la hidrólisis de penicilinas naturales y en la síntesis de antibióticos semisintéticos.

#### **Bibliografía.**

1. Torres R., Ramón F., de la mata., Acebal C. y Castellón M.P. (1999) Enhanced production of penicillin V acylase from *Streptomyces lavandulae*. *Appl Microbiol Biotech* (53):81-84
2. Balasingham K, Warburton D. Dunnill P, Lilly D.(1972) The isolation and kinetics of penicillin amidase from E. Coli . *Biochim Biophys Acta* (270):250-256.