

Teste em reator tipo tanque de colônias da espécie *Streptomyces clavuligerus* após tratamento mutagênico

*Flavia Salvato¹ (IC), Isara L. C. Hernández² (PG), Carlos O. Hokka² (O); Maria Lúcia G.C. Araújo¹ (O).

* fasalvato@hotmail.com

¹ Instituto de Química Unesp – Rua Francisco degni, s/ no.- Araraquara - SP

² Ufscar – Rodovia Washington Luiz- São Carlos - SP

Palavras Chave: *Streptomyces clavuligerus*, mutagênese, luz UV, metil metano sulfonado, ácido clavulânico

Introdução

Através da espécie *Streptomyces clavuligerus* obtém-se o ácido clavulânico (AC) que é um composto beta lactâmico com atividade anti-bacteriana relativamente baixa mas é um potente inibidor de beta lactamases produzidas por bactérias resistentes a penicilinas e cefalosporinas. Quando utilizado em combinação com antibióticos, o ácido clavulânico bloqueia o sítio ativo de β -lactamases, conferindo-lhes um maior espectro de ação. Para o desenvolvimento de linhagens mais produtivas, utiliza-se a técnica do melhoramento genético dos microrganismos de interesse através da mutagênese induzida utilizando agentes químicos e físicos. Esse melhoramento das linhagens visa principalmente um aumento na produtividade de antibióticos e tem sido de crucial importância nos programas de melhoramento de linhagens para a produção de antibióticos (Baltz, 1986). Para este trabalho, foram utilizados como agentes mutagênicos, o metil metano sulfonado (MMS) e a luz ultra violeta (UV). Na indústria, a produção de antibióticos é realizada na maioria delas, utilizando-se culturas submersas em reatores tipo tanque agitado e aerado, com volumes que podem chegar até cerca de 200 mil litros. Portanto, este trabalho teve como objetivo testar as colônias mutadas com luz UV e MMS em fermentador tipo tanque aerado e agitado visando um aumento na produção de ácido clavulânico.

Resultados e Discussão

Para este trabalho foram utilizados criotubos contendo culturas liofilizadas das colônias mutadas. Essas colônias foram hidratadas e em seguida, foram adicionadas em meio de reativação contidos em erlenmeyer onde permaneceram por 24 horas a 250 rpm. Transcorridas as 24 horas, alíquotas foram adicionadas em meio de inóculo sob as mesmas condições anteriores e em seguida em meio de fermentação (contido no reator). O ensaio em reator tipo tanque agitado e aerado teve duração de 120 horas utilizando um volume de 1.8 litros de meio de fermentação principal. A temperatura do caldo foi mantida a 28°C. Durante todo o cultivo, foram monitorados a concentração de oxigênio dissolvido,

30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química

o pH, a sobrepressão bem como a formação de espumas, havendo a adição de anti-espumante quando o volume de espuma era muito alto. As amostras eram recolhidas duas vezes por dia para análise de concentração celular, concentração de glicerol e de ácido clavulânico. As colônias testadas em reator foram AC 70, AC13A e MMS 115. Através dos ensaios em reator percebeu-se que o tempo ótimo para produção de AC foi de 72 horas. Apenas a colônia MMS 115 continuou produzindo AC até 120 horas.

Tabela 1. Concentração de Biomassa, Ácido clavulânico e glicerol das colônias testadas em reator com 72 horas.

Colônias testadas	Biomassa (g/l)	Glicerol (mg/l)	Ácido clavulânico (mg/l)
AC 13A	9.42	0.40	285.38
AC 70	9.8	0.50	289.4
MMS 115	8.49	2.45	412

Conclusões

Todos os mutantes se mostraram ótimos produtores de ácido clavulânico pois superaram a produção obtida em reator de uma colônia sem o tratamento mutagênico. Entre as colônias mutadas, a que mais produziu ácido clavulânico foi a colônia MMS115 que produziu em 72 horas 412 mg/l e em 120 horas 616,57 mg/L. Através deste trabalho conclui-se que o processo de tratamento mutagênico é eficaz quando se pretende obter aumentos significativos na produção de ácido clavulânico sendo um caminho promissor para as indústrias farmacêuticas.

Agradecimentos

Fapesp, Cnpq

¹Daum, S. J. e Lemke, J. R. Annual Rev Microbiol. **1979**, 33, .241.

²Elander, P.R. Appl. Microbiol Biol. **2003**, 61, 385.