

UNIVERSIDAD DE CONCEPCION
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA

OBTENCIÓN DE CEPAS MUTANTES DE
Mycobacterium sp. CON ACTIVIDAD
BIOTRANSFORMADORA DE FITOESTEROLES



MARICEL DE LOURDES VIDAL OYARCE

TESIS PRESENTADA A LA ESCUELA DE GRADUADOS DE LA
UNIVERSIDAD DE CONCEPCION PARA OPTAR AL GRADO DE
MAGISTER EN CIENCIAS MENCIÓN MICROBIOLOGÍA

CONCEPCION-CHILE
2001

Ha sido aprobada por la siguiente

RESUMEN

Las transformaciones microbiológicas de compuestos orgánicos han sido estudiadas desde hace varias décadas, siendo uno de los mayores aportes en la industria farmacéutica, para la obtención de antibióticos y esteroides. El consumo de esteroides y sus derivados han tenido un aumento continuo a nivel mundial, por otro lado, las fuentes de obtención, a partir de productos naturales mediante hemisíntesis química, han sufrido una disminución paulatina, debido a un agotamiento de la principal materia prima, las plantas del género *Dioscorea*.

La ruta microbiológica, en la obtención de esteroides, nace como una alternativa de bajo costo y de menos etapas, en donde se han utilizado una variedad de cepas de hongos, bacterias y microalgas. En este trabajo, se seleccionaron cepas mutantes de *Mycobacterium* sp. MB-3683 y *Mycobacterium fortuitum* B-11045 con capacidad biotransformadora de fitoesteroles. Sobre estas cepas, se ejerció una presión selectiva mediante el uso de altas concentraciones de sustrato. Para esto, se cultivaron ambas cepas de *Mycobacterium* en un medio enriquecido con β -sitosterol (14 gr/l) como única fuente de carbono. Durante este proceso, se realizaron siete trasposos sucesivos de los cultivos bacterianos en un período de dos meses. La extracción de productos de biotransformación se realizó con metanol y acetato de etilo y posteriormente los análisis cualitativo y cuantitativo se llevaron a cabo mediante cromatografía en capa fina, cromatografía gas-líquido (GLC) y GLC-masa.

Bajo estas condiciones, se observó que después de los siete trasposos, las cepas *Mycobacterium* sp. MB-3683 y *M. fortuitum* B-11045, aumentaron su porcentaje de biotransformación desde un 20% a un 64% y desde un 34% a un 55%, respectivamente. Los productos de biotransformación obtenidos, en mayor proporción, para cada

experiencia fueron la androstenediona (AD) y androstadienediona (ADD). Además, se aisló a partir del quinto traspaso, un producto derivado del AD que posee un grupo hidroxilo en posición 9, que es una excelente alternativa para la obtención de un grupo de hormonas esteroidales, del tipo corticoides.

Los resultados sugieren que, una elevada concentración de sustrato es un buen mecanismo selectivo de cepas más eficientes en la biotransformación de β -sitosterol a bases esteroidales, y que, además, la biotransformación puede dirigirse hacia la obtención de productos definidos como el 9-OH-AD.

