VII EAITI 2017 Encontro Anual de Iniciação Tecnológica e Inovação
Universidade Estadual de Ponta Grossa | 09 e 10 de novembro de 2017

PRODUÇÃO DE RAMNOLIPÍDEOS POR FERMENTAÇÃO SUBMERSA ESTÁTICA EM MEMBRANA DE CELULOSE BACTERIANA: ESTUDO DE PROFUNDIDADE DE LEITO DE CULTIVO

Isadora Caroline Sawoniuk (PIBITI/Fundação Araucária/UEL), Doumit Camilios Neto camiliosneto@uel.br

Universidade Estadual de Londrina/Departamento Bioquímica e Biotecnologia

Área e subárea do conhecimento: Bioquímica e Bioquímica dos Microrganismos

Palavras Chave*: Biossurfactantes, ramnolipídeos, cultivos submersos, Pseudomonas aeruginosa*

Resumo

Nos últimos anos os biossurfactantes têm chamado a atenção pela baixa toxicidade, biodegradabilidade, e alta aceitabilidade ecológica. No entanto, a aplicação destes compostos ainda é muito limitada. A utilização de cultivos submersos estáticos com a presença de matriz sólida tem como objetivo de diminuir os custos de produção e viabilizar a obtenção biotecnológica. Este projeto teve como objetivo estudar o efeito da profundidade do leito de cultivo durante a produção de ramnolipídeos por cultivos submersos estáticos em celulose bacteriana.

Introdução

Ramnolipídeos são biossurfactantes produzidos por *Pseudomonas aeruginosa*, que apresentam excelentes propriedades tensoativas e podem ser produzidos em altas concentrações. A fermentação submersa estática em suporte de membrana de celulose bacteriana apresenta-se como uma alternativa para produção de ramnolipídeos provendo formas de se evitar a formação de espumas, um grave problema dos processos de produção por fermentação submersa[1]. Adicionalmente, esta tecnologia fermentativa apresenta vantagens, como a possibilidade de reutilização das membranas de celulose bacteriana, além de não agregar no custo de produção do processo, pois não há a necessidade de gastos adicionais com aeração e agitação[1].

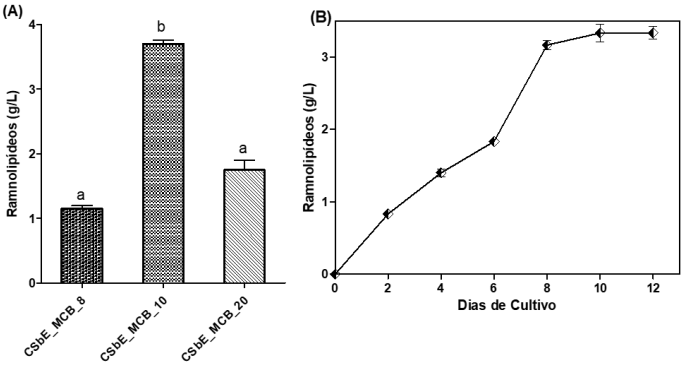
Material e Métodos

Os pré-inóculos de *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 foram realizados em frascos Erlenmeyer de 125 mL contendo 25 mL de LB inoculados com 3-5 colônias de PAO1 e incubados por 12-16h a 37 °C/200rpm. As membranas foram inoculadas em uma proporção de 2 % de volume de inóculo em volume de solução umedecedora. A solução umedecedora era constituída de meio de sais (contendo, por litro: 3,0 g KH_2PO_4; 7,0 g K_2HPO_4; 0,2 g $MgSO_4.7H_2O$ e 1,0 g $(NH_4)_2SO_4$ adicionada de glicerol 3 % (v/v). Os volumes de solução umedecedora utilizados por membrana foram de 8 mL, 10 mL ou 20 mL. Os ensaios de CSbE-MCB foram interrompidos em tempo de cultivo oportuno e submetidos à extração dos ramnolipídeos com água destilada em agitador orbital. Os extratos resultantes foram centrifugados. Os sobrenadantes livre de células foram submetidos à extração com $CHCl_3$:CH_3OH (3:1). Os ramnolipídeos recuperados na fração orgânica foram quantificados indiretamente pelo método do fenol-sulfúrico [2], utilizando uma curva padrão de ramnose.

Resultados Obtidos

A produção de ramnolipídeos por cultivos submersos estáticos em matriz de celulose bacteriana (CSbE-MBC) foram realizados em diferentes volumes de meio de cultivo em um mesmo sistema. O volume inicial de 10 mL apresentou o melhor resultado, enquanto o volume inicial de 8 mL apresentou um ressecamento causando uma consequente queda na produção (Fig.1A)

Figura 1. Produção de ramnolipídeos por cultivos submersos estáticos em matriz de celulose bacteriana: (A) Avaliação de diferentes alturas de leitos. (B) Cinética de produção de ramnolipídeos. As diferentes letras minúsculas sobre as barras indicam diferença estatisticamente significativa em t- teste, p-valor <0,01.



A cinética da produção de ramnolipídeos por CSbE-MCB, utilizando 10 mL de meio, apresentou aumento linear dos níveis de produção do tensoativo nos primeiros seis dias de cultivo, um platô foi atingido a partir do 8 dia de cultivo (Fig. 1B).

Conclusão

Os resultados obtidos nesse trabalho sugerem que a altura do leito apresenta uma influência no processo. A tecnologia fermentativa CSbE-MCB apresenta um grande potencial para viabilização da produção biotecnológica de surfactante.

Agradecimentos

Capes, CNPq e Fundação Araucária.

[1]CAMILIOS-NETO, D.; VIGNOLI, J. A.; CONCEICAO, K. S.; ALMEIDA, M. A.; SAWONIUK, I. C.; MARQUES, G. D.; TISCHER, C. A.; FARIA-TISHER, P. C. S. PRODUÇÃO DE RAMNOLIPÍDEOS POR FERMENTAÇÃO ESTÁTICA EM SUPORTE DE MEMBRANAS DE CELULOSE BACTERIANA, 2017. **Patente de Invenção.** Número do registro: BR10201700663. Data de depósito: 30/03/2017.

[2]DUBOIS, M.; GILLES, K.A.; HAMILTON, J.K ; REBERS, P.A.; SMITH, F. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, p. 350-356, 1956.