

Produção de biossurfactantes e alfa-amilase por *Bacillus subtilis* OG em meio de Landy modificado

Marília Maretti^{1,*}(IC), Cleber W. Liria²(PQ), Maria Teresa Machini²(PQ), Augusto Etchegaray^{1,*}(PQ)
*e-mail: ma.maretti@gmail.com

¹Faculdade de Química, CEATEC, PUC-Campinas, Rodovia D. Pedro I, Km 136, Parque das Universidades, CEP 13086-900, Campinas – SP;

²Departamento de Bioquímica, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, Av. Prof. Lineu Prestes, 748, CEP 5508-900, São Paulo, SP.

Palavras Chave: *Bacillus subtilis*, surfactinas, iturinas, fengicinas, alfa-amilase

Introdução

Uma forma de diminuir os custos da produção de biossurfactantes é agregando valor à biomassa e ao extrato do microrganismo produtor. Exemplificando, a produção *in vitro* de surfactinas tem baixo rendimento e envolve o cultivo de *Bacillus subtilis* usando substratos caros.¹ Durante o crescimento, a surfactina e outros lipopeptídeos são produzidos e excretados para o meio de cultura.² Ao final do crescimento microbiano, o extrato é separado da biomassa por centrifugação. Esta biomassa, que seria descartada, é uma fonte de proteínas e lipídeos, com aplicações potenciais para a síntese de outros surfactantes e/ou para a produção de biodiesel. Adicionalmente, *B. subtilis* produz e excreta alfa-amilases, enzimas importantes para a indústria farmacêutica, de alimentos e para a produção de etanol.³ O objetivo deste trabalho é apresentar alternativas para diminuir os custos da produção de surfactinas, utilizando substratos mais baratos e agregando valor à biomassa e ao extrato de *B. subtilis*.

Resultados e Discussão

O meio de Landy utiliza substratos caros: glicose (20g L⁻¹) e ácido glutâmico (Glu; 5g L⁻¹), respectivamente como fonte de carbono e nitrogênio.¹ Neste trabalho, foram avaliadas novas fontes de carbono, mantendo arginina (Arg) como fonte de nitrogênio. Durante o cultivo foi avaliada a produção de alfa-amilase (Tabela 1). O cultivo foi realizado (sem agitação) em erlenmeyers de 500 mL contendo 100 mL de meio.

Tabela 1. Substratos alternativos para a fonte de carbono utilizados no meio de Landy e o seu efeito na expressão de alfa-amilase.

Fonte de carbono	Alfa-amilase (u/mL)
Caldo de banana/Glicerol 20 g L ⁻¹	168
Caldo de banana/Glicerol 30 g L ⁻¹	192
Caldo de banana/Glicerol 40 g L ⁻¹	172
Glicerol 20 g L ⁻¹	38,4
Glicerol 30 g L ⁻¹	52,8
Glicerol 40 g L ⁻¹	69.6

As modificações no meio de Landy têm demonstrado que substituindo-se Glu por Arg há um aumento da produção de biomassa e de biossurfactantes. A Tabela 2 apresenta os principais lipopeptídeos (surfactinas, fengicinas e iturinas), produzidos por *B. subtilis* OG em meio de Landy modificado utilizando-se glicerol como fonte de carbono e Arg como fonte de nitrogênio.

Tabela 2. Alguns lipopeptídeos identificados nos extratos de *B. subtilis* cultivado em meio de Landy modificado.

Peptídeo	Íon molecular	Isoforma*	Contra-íon
surfactina	980	(Ala) C13	[M+H ⁺]
	1058	(Gln) C15	[M+Na ⁺]
iturina	1066	bacilomicina	[M+Na ⁺]
fengicina	1437	A C14	[M+H ⁺]
	1526	B C17	[M+Na ⁺]

*Aminoácido variável/nome/carbonos do ácido graxo

Surfactinas foram quantificadas precipitando-se o extrato livre de células com HCl (pH 2,0). A expressão de alfa-amilase foi avaliada quantificando-se a conversão de amido em maltose. A produção de biodiesel foi avaliada pela transesterificação direta da biomassa.

Conclusões

A expressão de alfa-amilase é induzida em meio contendo caldo de banana/glicerol (Tabela 1). O Aumento da quantidade de glicerol leva ao aumento na biomassa e da produção de lipopeptídeos e amilase. A coprodução de biossurfactantes, alfa-amilase, biomassa/biodiesel em meio contendo caldo de banana/glicerol demonstrou que o seu uso pode diminuir os custos da produção de biossurfactantes.

Agradecimentos

À PUC-Campinas, ao CNPq e à Fapesp.

¹ Al-Ajlani, M. M. et al., *Microb. Cell Fact.*, **2007**, 6, 17.

² Etchegaray et al., *Arch. Microbiol.*, **2008**, 190, 611.

³ de Souza, P. M.; Magalhães, P.O., *Braz. J. Microbiol.*, **2010**, 41, 850.