



XXV Congresso de Iniciação Científica da Unicamp

18 a 20 Outubro Campinas | Brasil



2017



Produção biotecnológica de biossurfactante por linhagens de *Pseudozyma* sp.

Matheus de A. Santos*, Bruno N. Paulino, Gláucia M. Pastore.

Resumo

A capacidade de produção de biossurfactantes foi avaliada em um estudo de screening de 30 linhagens de leveduras do gênero *Pseudozyma* sp. através da medida de tensão superficial do extrato livre de células após o processo fermentativo. Desse total, 2 linhagens de leveduras da espécie *Pseudozyma aphidis* apresentaram potencial para a produção de biossurfactantes utilizando glicose como fonte de carbono.

Palavras-chave: Biossurfactantes, Biotecnologia, Leveduras, *Pseudozyma*.

Introdução

Os biossurfactantes são compostos naturais capazes de reduzir a tensão superficial e interfacial de líquidos e sistemas bifásicos^[1]. Esses compostos são provenientes do metabolismo secundário de uma ampla variedade de micro-organismos, tais como fungos, leveduras e bactérias^[1,2]. Estruturalmente, são compostos anfífilos, possuem uma parte da sua estrutura com característica hidrofílica e outra hidrofóbica. Eles são classificados em dois grandes grupos, lipopeptídeos e glicolipídeos, sendo esse último grupo considerado promissor, uma vez que sua utilização vem ganhando destaque como alternativa ao uso de surfactantes sintéticos, em diversos produtos no mercado, por conta das vantagens que apresentam, como: baixa toxicidade, maior biodegradabilidade e possibilidade de produção a partir de substratos de baixo custo^[3]. Além disso, leveduras do gênero *Pseudozyma* sp. são conhecidas pela sua capacidade de produção de biossurfactantes glicolipídicos, sendo consideradas atraentes produtoras para fins industriais. Portanto, o presente projeto visa avaliar a capacidade de produção de biossurfactantes por linhagens de leveduras do gênero *Pseudozyma* sp. utilizando glicose como fonte de carbono.

Resultados e Discussão

Os micro-organismos foram crescidos em placas de meio YPD (10 g/L de extrato de levedura, 20 g/L de peptona, 20 g/L de glicose e 15 g/L de ágar) por 48 horas em estufa bacteriológica a uma temperatura de 30°C. Inicialmente, as leveduras foram inoculadas em caldo YPD (10 g/L de extrato de levedura, 20 g/L de peptona, 20 g/L de glicose) e a tensão superficial foi medida após 120 horas de cultivo a 30°C e 150 rpm. Desse total, nove linhagens foram selecionadas e inoculadas em 150 mL de meio mineral (3.0 g/L NaNO₃, 0.3 g/L MgSO₄.7H₂O, 0.3 g/L KH₂PO₄ e 1.0 g/L de extrato de levedura) com 40.0 g/L de glicose (MMG) como única fonte de carbono. Para o monitoramento da produção de biossurfactantes, alíquotas de 10 mL foram retiradas em diferentes intervalos e centrifugadas a 9000 rpm e 5°C por 20 minutos para a remoção das células, e as medidas de tensão superficial do sobrenadante foram realizadas pelo método de placa em um tensiômetro modelo K12 (Kruss, GmbH, Alemanha).

Tabela 1. Resultados de Tensão superficial (mN/m) das linhagens de *Pseudozyma* cultivadas em MMG

Código	24 h	48 h	72 h	120 h
Y 5768	37,7	27,56	31,32	29,96
Y 1183	56,42	35,26	60,31	61,01
Y 4234	46,34	31,26	66,27	56,02
Y 4211	46,47	49,87	52,15	44,96
Y 3468	32,13	32,74	34,12	30,1
Y 1387	32,09	62,5	29,22	29,51
Y 3653	31,97	54,33	49,84	58,72
Y 4078	46,99	38,16	55,78	55,78
Y 3533	35,83	41,53	38,38	29,97

Percebeu-se que uma redução da tensão superficial para valores abaixo de 31 mN/m, valor significativamente menor que o do controle (meio de cultivo sem inóculo, 58 mN/m) para 4 das 9 linhagens testadas. As linhagens com os resultados mais promissores correspondem à espécie *Pseudozyma aphidis*. Com o intuito de verificar qual das linhagens seria a maior produtora de biossurfactantes, em termos quantitativos, foi realizada a medida da Diluição Micelar Crítica (CMD⁻¹) correspondente à diluição de 10 vezes da alíquota do extrato livre de células utilizado no monitoramento. Foram retiradas amostras em intervalos de 24, 72 horas e 8 dias de cultivo. Para fins de simplicidade, a Tabela 2 apresenta apenas os dados em triplicata após 8 dias.

Tabela 2. CMD⁻¹ (mN/m) após 8 dias de cultivo

Código	Replicata 1	Replicata 2	Replicata 3
Y1387	52,99	48,69	52,89
Y3533	69,7	45,86	55,59
Y3468	30,3	29,62	29,94
Y5768	29,37	28,75	30,01

Conclusões

Duas linhagens de *Pseudozyma aphidis* exibiram importantes resultados de redução de tensão superficial quando cultivadas em meio mineral com glicose como fonte de carbono. Após 8 dias de cultivo, valores de tensão superficial menores que 31mN/m foram obtidos, indicando grande potencial para a produção de biossurfactantes glicolipídicos.

Agradecimentos

Ao Laboratório de Bioaromas e Compostos Bioativos (FEA-UNICAMP), PIBIC-PrP e ao CNPq.

¹ Schramm, L. L. *et al.* Annu. Rep. Prog. Chem., Sect. C, 2003, 99, 3–48.

² Mulligan, C. N. Environmental applications for biosurfactants, Environmental Pollution, 133, 2005, 183–198.

³ Paulino, B.N. *et al.* Appl Microbiol Biotechnol, 2016, 100, 10265-10293.