

IV SEMANA DO CONHECIMENTO

COMPARTILHANDO E FORTALECENDO REDES DE SABERES

6 A 10 DE NOVEMBRO DE 2017



Marque a opção do tipo de trabalho que está inscrevendo:

(X) Resumo

() Relato de Caso

PRODUÇÃO DE SURFACTINA E PADRONIZAÇÃO DE METODOLOGIA COLORIMÉTRICA PARA QUANTIFICAÇÃO DO BIOSURFACTANTE

AUTOR PRINCIPAL: Ângela Carolina Cappellaro

CO-AUTORES: Thaís Strieder Machado, Andressa Decesaro, Kimberly van Schaik Reginato, Ana Cláudia Margarites

ORIENTADOR: Luciane Maria Colla

UNIVERSIDADE: Universidade de Passo Fundo

INTRODUÇÃO:

Durante o processo de biorremediação em áreas contaminadas, os microrganismos do solo produzem biossurfactantes, para poderem utilizar o contaminante como fonte de carbono, acelerando o processo de biodegradação (ÂNGELES; REFUGIO, 2013).

Os microrganismos do gênero *Bacillus* sp. destacam-se por serem facilmente encontrados em solos, e produzem biossurfactantes do tipo surfactina. Este biossurfactante possui uma porção proteica, sendo possível realizar sua quantificação através de métodos espectrofotométricos para determinação de proteínas. O desenvolvimento de metodologias que permitam quantificar biossurfactantes em solos durante o processo de biorremediação auxilia na otimização da estratégia, pois ainda não estão esclarecidos os mecanismos em torno da produção de biossurfactantes *in situ*.

Desta forma, o objetivo deste estudo foi produzir surfactina e padronizar uma metodologia para quantificação deste biocomposto, através de método espectrofotométrico.

DESENVOLVIMENTO:

Inicialmente, realizou-se a produção da surfactina ($C_{53}H_{93}N_7O_{13}$) através de fermentação submersa por 5 d em agitador orbital a 100 rpm. O meio de cultivo utilizado tinha como base soro de leite pré-tratado, através de acidificação e posterior ebulição por 10 min, sendo removido o precipitado por filtração e pH ajustado em 7,0. Para a composição do meio de cultivo, utilizou-se 50 mL do soro de leite pré-tratado, além da suplementação com 1% de sulfato de amônio, 2% de óleo de soja e adição de

IV SEMANA DO CONHECIMENTO

COMPARTILHANDO E FORTALECENDO REDES DE SABERES

6 A 10 DE NOVEMBRO DE 2017



solução de micronutrientes, além de 2 mL de inóculo da bactéria *Bacillus methylotrophicus*.

Durante a fermentação submersa foram retiradas alíquotas nos tempos inicial (T0) e final (T5) para a avaliação da produção de biossurfactantes através da tensão superficial, utilizando tensiômetro através do método do anel *Du-Nuoy's ring*. Ao final, o biossurfactante foi recuperado por precipitação ácida seguida de liofilização.

Considerando que a surfactina possui uma fração proteica, foi realizada a mensuração deste biocomposto pelo método adaptado de Biureto (GORNALL et al., 1949). Para a elaboração da curva padrão, que relaciona a concentração deste composto com absorvância, a surfactina (0,05g) foi diluída em água destilada e álcool etílico 92,8% na proporção de 1:1, e agitada por 20 min em agitador magnético. Após, foram preparadas soluções, variando a concentração de surfactina entre 10 a 500 mg/L. Em tubos de ensaio, em triplicata, foram adicionadas 2,5 mL das soluções de surfactina e 2,5 mL do reagente de Biureto, e em seguida agitados em vórtex. Os tubos de ensaio foram mantidos em banho-maria a 37 °C por 15 min e após realizada a leitura das amostras em espectrofotômetro a 540 nm. Para o ponto branco foi utilizada água destilada em substituição da amostra.

A partir dos resultados da fermentação submersa, demonstrados na Figura 1, pode-se observar que houve redução de 12,55% no valor da tensão superficial, partindo de 33,38 mN/m, no T0, e obtendo-se 29,19 mN/m, após os 5 d de fermentação, indicando a produção de compostos tensoativos.

Na Figura 2 é apresentada a curva padrão obtida para determinar a concentração de surfactina, a qual se mostrou adequada para aplicação na mensuração da produção de biossurfactantes que serão extraídos do solo, conforme Ángeles e Refugio (2013). A quantificação da surfactina ocorre devido à coloração resultante da reação entre a amostra contendo peptídios com o reagente de Biureto, conforme a quantidade de proteína presentes na mesma (SOUZA; NEVES, 2017). Esta coloração se deve às ligações estabelecidas entre os átomos de nitrogênio livre e o cobre (Cu^{+2}), ambos componentes do reagente.

Encontra-se dificuldades para a padronização de metodologias capazes de mensurar biossurfactantes, principalmente em solos, sendo que a maioria dos estudos utilizam métodos com elevados custos, como a cromatografia. Desse modo, a aplicação de métodos colorimétricos que apresentam custos menores torna-se favorável.

CONSIDERAÇÕES FINAIS:

Através da fermentação submersa em meio de cultivo com soro de leite, foi possível produzir surfactina suficiente para utilização na padronização da metodologia. A curva padrão obtida através do método de Biureto apresentou-se apropriada para a determinação da surfactina em meio aquoso, podendo ser utilizada para quantificar os biossurfactantes produzidos em solos.

IV SEMANA DO CONHECIMENTO

COMPARTILHANDO E FORTALECENDO REDES DE SABERES

6 A 10 DE NOVEMBRO DE 2017



REFERÊNCIAS:

ÁNGELES, M. T.; REFUGIO, R. V. In situ biosurfactant production and hydrocarbon removal by *Pseudomonas putida* CB-100 in bioaugmented and biostimulated oil-contaminated soil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 44, n. 2, p. 595-605, 2013.

GORNALL, A. G.; BARDAWILL, C. J.; DAVID, M. M. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. **Journal of Biological Chemistry**, v. 177, p. 751-766, 1949.

SOUZA, K. A. F. D.; NEVES, V. A. Experimentos de bioquímica. 2017. Disponível em: <http://www.fcfar.unesp.br/alimentos/bioquimica/praticas_proteinas/reacoes_coradas_dois3.htm>. Acesso em: 02 ago. 2017.

IV SEMANA DO CONHECIMENTO

COMPARTILHANDO E FORTALECENDO REDES DE SABERES

6 A 10 DE NOVEMBRO DE 2017



ANEXOS:

Figura 1 - Tensão superficial na produção de surfactina na fermentação submersa.

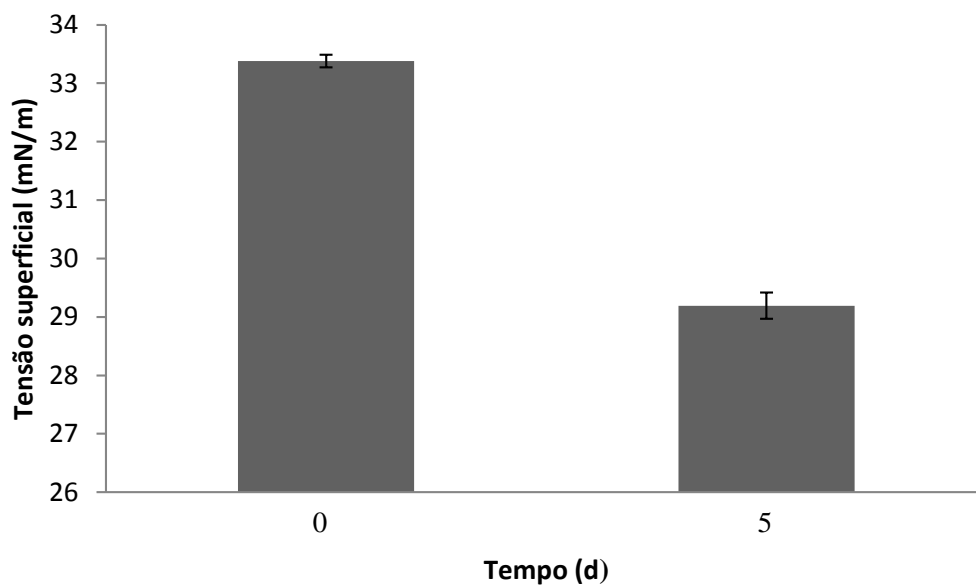


Figura 2 - Curva padrão de surfactina utilizando o método de Biureto.

