

## VALIDAÇÃO DE MODELO DE PRODUÇÃO DE RAMNOLÍPÍDEOS POR FERMENTAÇÃO SUBMERSA ESTÁTICA DE LEITO RASO

Monique Moleiro Matusso (PIBITI/CNPq/UEL), Josiane Alessandra Vignoli (Orientador), javignoli@uel.br

Universidade Estadual de Londrina/ Departamento de Bioquímica e Biotecnologia

Área e subárea do conhecimento: Bioquímica e Bioquímica dos Microrganismos

Palavras Chave: *Pseudomonas aeruginosa*, ramnolipídeos, biossurfactante.

### Introdução

Ramnolipídeos (RL) são biossurfactantes produzidos por *Pseudomonas aeruginosa*, possuem excelentes propriedades tensoativas e podem ser produzidos em altas concentrações. A via de biossíntese dos RL compreende três de reações sequenciais, catalisadas pelas enzimas RhlA, RhlB (ramnosiltransferase 1) e RhlC (ramnosiltransferase 2). Os genes *rhlA* e *rhlB* encontram-se organizados em um operon bicistrônico, enquanto o gene *rhlC*, encontra-se em uma região cromossômica diferente dos demais genes *rhl*. O presente trabalho teve como objetivo validar o modelo de produção de RL por fermentação submersa estática de leite raso (FSbE). A validação foi realizada através da comparação das cinéticas de expressão do gene *rhlA*, por ensaio de  $\beta$  – galactosidase, do proposto processo em relação aos cultivos por fermentação submersa (FSb) clássica (agitada/aerada).

### Problema

Os RL estão entre os biossurfactantes mais estudados e promissores, porém os altos custos de produção são um fator limitante para a sua aplicação comercial. Os processos existentes contam principalmente com agitação e aeração forçada acarretando em uma intensa formação de espumas, o que reduz a produtividade ou até mesmo inviabiliza a produção.

### Solução e Benefícios

A figura 1 mostra a cinética de expressão de *rhlA* por fusão-reporter (*rhlA-lacZ*) nas FSb e FSbE, com e sem a adição de 2mL de água destilada no quarto dia de cultivo.

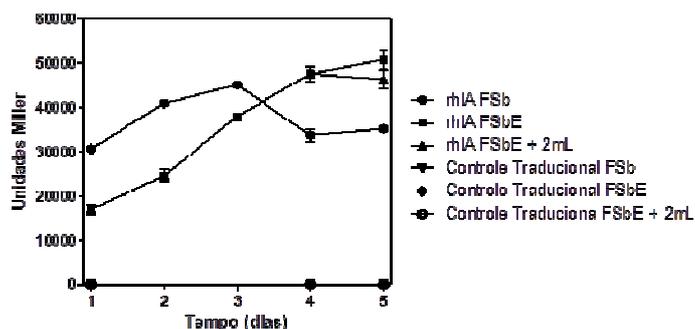


Figura 1. Análise de expressão gênica em cultivos submersos (FSb) e cultivos submersos estáticos de leite raso (FSbE) por ensaio de atividade de  $\beta$  – galactosidase

Note que, uma vez que *rhlA* e *rhlB* organizam-se em um operon as análises da fusão *rhlA-lacZ* acabam cobrindo expressão do operon. Até o terceiro dia de cultivo, a expressão de *rhlA-lacZ* é maior nos cultivos por FSb. Porém, entre o terceiro e o quarto dia, há uma inversão na expressão, sendo que FSbE supera FSb em 38 %, o que é mantido até o quinto dia de experimento. O aumento da expressão nas FSbE é acompanhado de uma maior produção de RL neste processo (5,3g/L) quando comparado com a FSb (3,9 g/L).

### Potencial de Mercado e Diferencial Competitivo

Neste trabalho foi validado o processo de produção de ramnolipídeos por fermentação submersa estática com leite raso (FSbE). FSbE é uma alternativa para inibir formação de espuma e se obter altos níveis de produção desse biossurfactante sem diminuir a eficiência do processo. Adicionalmente esta tecnologia fermentativa diminui o custo global do processo, já que não há gasto adicional com energia para a agitação e aeração do sistema.

### Considerações Finais

O modelo de FSbE mostrou-se mais adequado para a produção do biossurfactante. A análise de expressão da fusão *rhlA-lacZ* sugere que a maior produção de ramnolipídeos apresentada pela modelo está relacionada a uma maior expressão do operon *rhlAB* na FSbE.

### Estágio de Desenvolvimento da Tecnologia

( x ) Laboratório ( ) Mercado  
( ) Scale-up (mudança de escala) ( ) Protótipo

### Agradecimentos

CNPq e Capes.

### Contato Institucional

Universidade Estadual de Londrina  
AINTEC – Agência de Inovação Tecnológica da UEL  
Telefone: (43) 3371-5812  
Home page: <http://www.aintec.com.br/>