

(BB) Estudo da produção de surfactina por *Bacillus* sp com suplementação do meio de cultivo

Fabiane de Oliveira Barban¹, Vitória Fernanda Bertolazzi Zocca¹, Danielle Biscaro Pedrolli¹

¹Departamento de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP.

Introdução: A biossíntese de lipopeptídeos cíclicos vem sendo um alvo de estudos recentes devido à sua alta aplicabilidade em diversos âmbitos industriais, variando desde agentes antimicrobianos até componente de emulsões na área alimentícia, além de gerar menores impactos ambientais durante a produção comparado aos emulsificantes sintéticos. Dentre diversos tipos de lipopeptídeos cíclicos, destaca-se a surfactina que é produzida naturalmente por espécies de *Bacillus*, mas em baixa quantidade, evidenciando o desafio da sua produção. É possível reverter esse cenário utilizando ferramentas da bioquímica e da biologia sintética, entendendo as necessidades do microrganismos e aplicando os conhecimentos obtidos através da engenharia genética, para aumentar a produção de surfactina. **Objetivos:** inferir o estado metabólico de *Bacillus* sp através da suplementação do meio de cultivo com aminoácidos e avaliação da produção de surfactina. **Metodologia:** Os cultivos foram realizados utilizando meio PW. A suplementação foi realizada com aminoácidos (todos à uma concentração de 0,01% (m/v)) que compõe a estrutura da surfactina: leucina (i), valina (ii) e glutamina (iii), foi testado também o glutamato (iv) por possuir alta taxa de conversão para glutamina. Todos os cultivos foram realizados em tubos de ensaio incubados à 37°C e 220 rpm. A quantificação do crescimento celular (OD₆₀₀) foi realizada em leitora de microplacas e a quantificação da surfactina foi realizada utilizando o método colorimétrico baseado em cloreto de cetilpiridínio (CPC) e azul de bromotimol (BTB). Foram retiradas amostras para quantificação do crescimento, produção de surfactina e medição do pH após 24 e 42h do início. **Resultados e Discussão:** Os resultados mostraram que não há diferenças significativas no crescimento entre os cultivos i, iii e iv. A presença de leucina (i), glutamina (iii) ou glutamato (iv) no meio resultaram em maior produção de surfactina quando comparado ao meio sem suplementação. Já no cultivo ii, a presença de valina acarretou em um menor crescimento celular e a produção de surfactina não teve aumento significativo. O pH do meio de cultivo alcançou 10 na última medição em todos os casos, indicando a presença de surfactina, a qual tende a alcalinizar o meio. A produção de surfactina foi de 5,5 ± 0,4 g/L (i), 3,1 ± 0,1 g/L (ii), 3,5 ± 0,9 g/L (iii) e 4,7 ± 0,8 g/L (iv), enquanto o cultivo sem suplementação resultou em 3,0 ± 0,2 g/L de surfactina. **Conclusão:** Foi demonstrado que o acréscimo de alguns aminoácidos no meio de cultivo aumenta a produção de surfactina, sendo a leucina e o glutamato os que resultaram em maior aumento. É possível inferir, portanto, que a síntese desses aminoácidos pelas células é um gargalo na biossíntese de surfactina, algo que poderá ser corrigido com alterações genéticas, evitando gastos com suplementação para obtenção de maior quantidade de surfactina.

Palavras Chave: surfactina, biossíntese, *Bacillus*.

Apoio Financeiro: Fapesp (2023/06568-0).