

# Identificação de micro-organismos provenientes da água de formação do campo de Miranga, bacia de Recôncavo (BA) por MALDI-ToF MS

Michel R. de B. Chaves<sup>1</sup> (PG), Ramsés Capilla<sup>2</sup> (PQ), Anita J. Marsaioli<sup>1</sup> (PQ)\*

<sup>1</sup> Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Caixa Postal 6154, 13084-971 Campinas-SP, Brasil.

<sup>2</sup> Gerência de Geoquímica, CENPES, Petrobrás, Ilha do Fundão, Rio de Janeiro, Brasil

\*anita@iqm.unicamp.br

Palavras Chave: microbiota, petróleo, MALDI-ToF, *Bacillus*

## Introdução

A presença de micro-organismos em reservatórios causa grandes prejuízos na produção comercial do petróleo, principalmente quando relacionados à biodegradação, promovendo a formação de emulsões e corrosão de tanques de estocagem e equipamentos de transferência.<sup>1</sup>

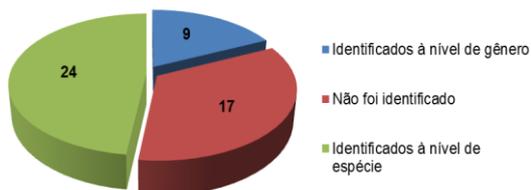
Esses problemas estão associados com a biodegradação do petróleo causada pela presença dessa microbiota complexa e rica, que é influenciada pela temperatura do reservatório e salinidade da água.<sup>2</sup>

Para análise de tal diversidade microbiana, recorre-se ao emprego de técnicas de identificação rápidas para uma grande quantidade de micro-organismos, como a espectrometria de massas *Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight* - MALDI-ToF, que têm se tornado ferramentas de grande utilidade nesse âmbito.<sup>3</sup>

## Resultados e Discussão

Foram isolados 50 micro-organismos a partir da água de formação proveniente do petróleo do campo de Miranga, na bacia do Recôncavo-BA, por meio da técnica de esgotamento, empregando diferentes meios de cultura seletivos (NA, TSA, MA, GYM e Zinder). Os mesmos foram caracterizados por meio das suas atividades enzimáticas com sondas fluorogênicas para lipase, hidrolase, epóxido-hidrolase e monooxigenase.

Para complementar a caracterização da microbiota, os micro-organismos que a compõem foram analisados em um MALDI-ToF microflex LT (*Bruker*) para identificação das cepas. Para isso, os espectros de massas obtidos após extração do conteúdo proteico, foram comparados com o banco de dados da *Bruker* (Biotyper 3.0) gerando identificações ao nível de gênero e mesmo espécie, conforme visto em detalhe na figura 1.

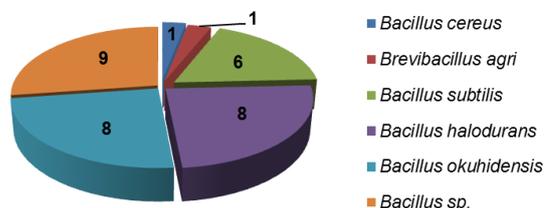


**Figura 1.** Resultados das identificações após a comparação com o banco de dados *Biotyper 3.0* no MALDI-ToF.

Dentre as 6 espécies identificadas (Figura 2), *B. subtilis* e *B. cereus* já foram isoladas a partir de outras amostras de petróleo.<sup>4</sup> Apesar de menos estudada, a espécie *B. agri* também já foi isolada em petróleos, apresentando potencial para degradar alguns constituintes do óleo, assim como *B. subtilis* e *B. cereus*.

As espécies *B. halodurans* e *B. okuhidensis*, muito similares filogeneticamente, são halofílicas e capazes de suportar elevadas salinidades. A predominância de micro-organismos do gênero *Bacillus* em reservatórios de petróleo é conhecida,<sup>5</sup> visto a capacidade emulsificante dos biossurfactantes que eles produzem, podendo até limitar a competição de outros micro-organismos.

Com a criação de um banco de dados de micro-organismos associados ao petróleo no MALDI-ToF pode-se melhorar a rapidez do processo de identificação ao nível de espécie.



**Figura 2.** Espécies e gêneros de micro-organismos identificados entre os isolados do campo de Miranga-BA.

## Conclusões

Dentre os 50 micro-organismos isolados do campo de Miranga, 24 foram identificados ao nível de espécie, mostrando que, mesmo com a limitação do banco de dados utilizado, o MALDI-ToF pode ser empregado como uma ferramenta rápida e prática.

## Agradecimentos

PETROBRÁS, FAPESP.

<sup>1</sup> White, N.; Thompson, M.; Barwise, T. *Nature*, **2003**, 426, 334-343.

<sup>2</sup> Da Cruz, G. F., Marsaioli, A. J., *Química Nova*, **2012**, vol. 35, No. 8, 1628-1634.

<sup>3</sup> Pennanec, X., Dufour, A., Haras, D., Rehel, K. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2010**, 24, 384-392.

<sup>4</sup> Lopes-Oliveira, P. F., Vasconcelos, S. P., Angolini, C. F. F., da Cruz, G. F., Marsaioli, A. J., Neto, E. V. S., Oliveira, V. M. *J. Pet. Env. Biotechnol.* **2012**, 3, 132.

<sup>5</sup> Benincasa, M., Abalos, A., Oliveira, I., Manresa, A., *Antoine van Leeuwenhoek*, **2004**, 85(1), 1-8.