

Engenharia metabólica na produção de biossurfactantes para utilização na indústria do petróleo

Danielly C. O. Mariano*(IC)¹, Luiz F. D. Tavares (PG)¹, Patrícia S. F. de Lima (PG)¹, Denise M. G. Freire (PQ)^{1,2}, Bianca C. Neves (PQ)¹. *daniellymariano.01@gmail.com

¹ LaMMP - Laboratório de Microbiologia Molecular e Proteômica – Instituto de Química – UFRJ, Av. Athos da Silveira Ramos, 149, Centro de Tecnologia, Bloco A, sala 541. CEP 21949-909, Cidade Universitária, Rio de Janeiro, Brasil.

² LaBiM – Laboratório de Biotecnologia Microbiana - Instituto de Química – UFRJ, Av. Athos da Silveira Ramos, 149, Centro de Tecnologia, Bloco A, sala 519. CEP 21949-909, Cidade Universitária, Rio de Janeiro, Brasil.

Palavras Chave: Biossurfactantes, Ramnolipídeos, *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia kururiensis*

Introdução

Biossurfactantes são compostos anfífilos capazes de reduzir a tensão superficial, sendo, em sua maioria, de origem microbiana. São produzidos, principalmente, sob crescimento aeróbio e em meio aquoso, encontrando aplicação em diversos setores ambientais e da indústria. Por exemplo, remediação de solos contaminados, recuperação melhorada de petróleo, além de aplicações em áreas como a indústria farmacêutica e cosmética.

Um exemplo deste composto são os biossurfactantes produzidos por uma cepa de *P. aeruginosa* (CENPES/PETROBRÁS), produtora de biossurfactantes do tipo ramnolipídeo, com comprovada eficiência na biorremediação e na lavagem de solos contaminados com petróleo. No entanto, trata-se de uma cepa patogênica oportunista. Recentemente, vem sendo descrita na literatura a produção de ramnolipídeos por cepas do gênero *Burkholderia*.

A proposta deste projeto é caracterizar os biossurfactantes obtidos através do emprego de ferramentas de biologia molecular. Com este objetivo, foram empregados hospedeiros heterólogos não patogênicos, como *Burkholderia kururiensis*, para a expressão heteróloga de genes de *Pseudomonas aeruginosa* envolvidos na biossíntese de ramnolipídeos.

Resultados e Discussão

- A cepa recombinante foi obtida através de transformação, sendo inicialmente realizada a amplificação e clonagem dos genes da *P. aeruginosa* PAO1 no vetor de expressão, sendo realizada em seguida a introdução do mesmo na cepa selvagem de *B. kururiensis*. A cepa resultante deste processo foi então cultivada em meio de saís contendo glicerol como única fonte de carbono, para a produção e posterior recuperação de ramnolipídeos.
- Os biossurfactantes foram recuperados do sobrenadante livre de células por extração com

solvente orgânico. O extrato bruto obtido foi então fracionado em coluna de Silica Gel 60, sendo obtidas frações mais puras desta biomolécula. Para confirmar a semelhança estrutural foi realizada uma análise por espectroscopia de Infravermelho (FTIR) sendo verificadas bandas características, como C=O, O-H e C-O-C.- As frações obtidas foram também analisadas por espectrometria de massas, onde foi observado que a cepa recombinante de *B. kururiensis* (LMM21) apresenta fragmentações com razão m/z características de mono e diramnolipídeos idênticos aos produzidos pela cepa de *P. aeruginosa* PAO1, de onde foram obtidos os genes para a manipulação genética.

Conclusões

- A superexpressão dos genes de *P. aeruginosa* resultou em aumento significativo na produção de ramnolipídeos em plataforma heteróloga;
- A população de ramnolipídeos produzida pela cepa recombinante de *B. kururiensis* (LMM21) é estruturalmente semelhante à de *P. aeruginosa* PAO1;
- Os resultados demonstram a viabilidade da substituição de uma bactéria patogênica por uma ambiental para a produção de biossurfactantes.

Agradecimentos



- Olson, M.V., 2000. Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, an opportunistic pathogen. *Nature*, 406, 959-964.
- Zhang, H., Hanada, S., Shigematsu, T., Shibuya, K., Kamagata, Y., Kanagawa, T. and Kurane, R., 2000. *Burkholderia kururiensis* sp. nov., a trichloroethylene (TCE)-degrading bacterium isolated from an aquifer polluted with TCE. *Int J Syst Evol Microbiol*, 50 Pt 2, 743-749.