



Evento	XXI FEIRA DE INICIAÇÃO À INOVAÇÃO E AO DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO – FINOVA/2012
Ano	2012
Local	Porto Alegre - RS
Título	CARACTERIZAÇÃO DE g-PGA PRODUZIDO POR Bacillus subtilis BL53
Autor	VANESSA ZIMMER DA SILVA
Orientador	MARCO ANTONIO ZACHIA AYUB

CARACTERIZAÇÃO DE γ -PGA PRODUZIDO POR *Bacillus subtilis* BL53

Vanessa Zimmer da Silva

RESUMO

O ácido γ -Poliglutâmico (γ -PGA) é um poliaminoácido, solúvel em água e muito higroscópico, formado por unidades repetitivas de glutamato que apresentam grupos carboxila ao longo da cadeia principal, sendo produzido principalmente por bactérias do gênero *Bacillus*. Para alguns microrganismos o γ -PGA pode ser um componente estrutural constituindo a cápsula (*B. anthracis* e *B. megaterium*) ou, para outros, livremente difundido no meio auxiliando na sobrevivência (*B. licheniformis* e *B. subtilis*). Este biopolímero é essencial para as bactérias que o produzem, pois é produzido em condições de estresse, apresentando diferentes funções fisiológicas, dependendo da espécie. No *B. subtilis* é produzido para ser fonte de nutrientes em períodos de escassez, e como sequestrante de íons metálicos em solos contaminados. O γ -PGA pode ser aplicado em diversos setores da indústria, podendo ser utilizado na indústria de alimentos como crioprotetor, diminuindo a temperatura de congelamento do alimento; espessante, pela sua alta viscosidade; fator de prevenção à osteoporose, aumentando a biodisponibilização de cálcio no organismo com γ -PGA de alta massa molecular; quelante em tratamento de águas, sequestrando íons metálicos; embalagens biodegradáveis e como hidratante em cosméticos, substituindo o ácido hialurônico. Esta ampla utilização deve-se a sua não toxicidade, biodegradabilidade, biocompatibilidade, solubilidade em água, e biossíntese. Em 1942, seguindo estudos iniciados em 1937, foi estudada uma cepa de *B. subtilis* para a obtenção de ácido poliglutâmico. Este é produzido extracelularmente por *B. subtilis* e solubilizado no meio de cultivo, sendo assim mais facilmente separado das células, ao invés de ser sintetizado como componente da cápsula, como em *B. anthracis*. Quando presente na cápsula esse biopolímero é associado como fator de virulência, conferindo proteção anti-fagocitária ao microrganismo. A comprovação é feita quando o mesmo é facilmente fagocitado quando sua cápsula, composta por γ -PGA é degradada por enzimas. O *B. subtilis* BL53, previamente selecionado como eficiente produtor de ácido γ -poliglutâmico, caracteriza-se por ser um bastonete Gram positivo e produtor de endósporos, além de apresentar colônias caracteristicamente mucóides.

Com este trabalho visamos caracterizar o γ -PGA produzido quanto à massa molecular e viscosidade, comparando dois momentos durante o cultivo (48 e 96 horas) com o objetivo de padronizar o tempo de cultivo. A produção máxima de γ -PGA se dá em 48 h de cultivo, havendo intensa polimerização de γ -PGA através do microrganismo, sendo sua concentração mantida

aproximadamente constante durante o restante do tempo, uma vez que o cultivo é conduzido por 96 h. Além disto, também foram feitos testes quanto à eficiência da adição de uma etapa na extração do biopolímero, a concentração do cultivo com ultrafiltração anteriormente à precipitação com etanol, visando diminuir custos com etanol e tempo na extração.

O microrganismo (*B. subtilis* BL 53) foi cultivado em caldo E (pH 7,0 \pm 0,2) em duplicata até 48 horas, sendo mantido em simplificada até 96 horas. Com o objetivo de comparar o biopolímero obtido nos dois tempos de cultivo foram realizadas análises para determinação da massa molecular média, em espalhamento de luz; e para determinação de viscosidade aparente em viscosímetro. No cultivo foram obtidos valores de concentração de γ -PGA próximos a 17 g.L⁻¹ a partir de 24 h, e esta concentração manteve-se aproximadamente constante ao longo do cultivo. Foi obtido um biopolímero de massa molecular média de 1,5(\pm 0,3) \times 10⁶ g.mol⁻¹ e 1,7(\pm 0,35) \times 10⁶ g.mol⁻¹ e viscosidade aparente (em 25 g.L⁻¹) de 48,42 mPa.s⁻¹ e 81,88 mPa.s⁻¹ em 48 e 96 horas respectivamente. Estes resultados ilustram o potencial uso do γ -PGA em diferentes setores da indústria, como espessante de alimentos (viscosidade) e veículo de medicamentos (alta massa molecular).