

ANÁLISE CINÉTICA DO CULTIVO DE *Bacillus thuringiensis* var. israelensis EM MEIOS CONTENDO FONTES ALTERNATIVAS DE NITROGÊNIO ORGÂNICO

Clécia Pierozan (BIC/UCS), Maurício Moura da Silveira, Eloane Malvessi, Cíntia Panarotto - Divisão de Processos Biotecnológicos 2/Instituto de Biotecnologia/UCS - cpieroz@ucs.br

Bacillus thuringiensis var. israelensis (Bti), bactéria Gram-positiva esporulada, é capaz de produzir uma proteína paraesporal que apresenta alta especificidade contra larvas de dípteros, sendo por isso amplamente utilizada na produção de bioinseticidas. Neste trabalho, foi estudada a cinética do cultivo de Bti, utilizando meios formulados com extrato de levedura bruto (ELB-12g/L), como referência, farelo de soja (FS-10 e 20g/L) e extrato de soja em pó desengordurado-PS60 (8,4 e 12g/L) como fontes alternativas de nitrogênio, acrescentados de glicose e sais. Os cultivos foram realizados em biorreator de 4L de volume útil (B. BRAUN BIOTECH modelo Biostat B - RFA). O pH variou entre os limites de 5,5 e 7,0 com adição de HCl 2N e KOH 5M. A temperatura foi mantida em 30°C e o oxigênio dissolvido em um valor mínimo de 30% em relação à saturação. O número de esporos foi quantificado por plaqueamento seguido de contagem. As concentrações de glicose foram determinadas pelo método do DNS. O crescimento celular foi estimado indiretamente com base nos parâmetros respiratórios OUR (demanda de oxigênio pelo cultivo), YGO (fator de conversão de oxigênio em células) e mo (coeficiente de manutenção para o oxigênio), devido à presença de sólidos em suspensão em meios com FS que impossibilitam o uso de métodos convencionais. As máximas velocidades específicas de crescimento ($\mu_{x,m}$) foram calculadas durante a fase exponencial e o fator de conversão de glicose em células ($Y_{x/s}$) no início da estacionária. Nos cultivos com ELB 12g/L, FS 20g/L e PS60 8,4 e 12g/L foram encontrados valores de 45, 42, 33 e 43 mmolO₂/L/h para OUR e 11,5, 11,0, 10,3 e 12,5g/L para concentração celular. O perfil de consumo de substrato foi proporcional ao crescimento celular. Foram determinados valores de $3,3 \times 10^{12}$, $5,4 \times 10^{12}$, $1,4 \times 10^{13}$ e 12×10^{11} esporos/mL, 0,44, 0,57, 0,46 e 0,52h⁻¹ para $\mu_{x,m}$, e 0,51, 0,60, 0,55 e 0,60g/g, para $Y_{x/s}$, respectivamente. Com 10g/L de FS, observou-se crescimento diáuxico, possivelmente devido ao esgotamento do nitrogênio orgânico inicial, seguido da regeneração de esporos com a utilização do nitrogênio liberado após a lise celular e do substrato residual. Durante o primeiro período (ca. 10h) deste ensaio, foram encontrados valores de 26 mmolO₂/L/h, 5,1g/L, $7,2 \times 10^{10}$ esporos/mL, para OUR, concentração celular e esporulação, respectivamente, sendo consumidos 10g/L de glicose. Valores de 0,44h⁻¹ para $\mu_{x,m}$ e 0,49g/g para $Y_{x/s}$ foram determinados. No segundo período (12 a 36h), os respectivos valores obtidos foram 33 mmolO₂/L/h, 8,4g/L e $5,9 \times 10^{12}$ esporos/mL. Estes dados demonstram a viabilidade do uso de FS e PS60, como fonte de nitrogênio orgânico de baixo custo para o cultivo de Bti, sendo necessário, ainda, estabelecer uma correta relação C/N para este meio.

Palavras-chave: *Bacillus thuringiensis* var. israelensis, fontes de nitrogênio, cinética de cultivo

Apoio: UCS