

QUANTIFICAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO CELULAR DE *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* UTILIZANDO PARÂMETROS RESPIRATÓRIOS

Juliana de Oliveira Mattos (PIBIC/CNPq), Maurício Moura da Silveira, Eloane Malvessi, Cíntia Panarotto - Divisão de Processos Biotecnológicos II/Instituto de Biotecnologia/UCS - rvedovel@ucs.br

Bacillus thuringiensis var. *israelensis* (Bti) produz uma endotoxina utilizada na formulação de larvicidas aplicados no controle de dípteros. Como os meios de cultivo de Bti são formulados com resíduos agroindustriais, que contêm elevado teor de sólidos em suspensão, a determinação da concentração celular por métodos convencionais, como o do peso seco, torna-se inviável, dificultando a realização de estudos cinéticos com este microrganismo. Nestas condições, este trabalho objetivou adaptar o método de determinação indireta da concentração de biomassa microbiana, a partir de dados do balanço respiratório, para o cultivo de Bti IPS-82. Os cultivos foram realizados em biorreator de 4L de volume útil (B. BRAUN BIOTECH modelo Biostat B, RFA). O meio de cultivo continha 20g/L de glicose, 12g/L de extrato de levedura bruto e sais. O pH variou entre os limites de 5,5 e 7,0 com adição de HCl 2N ou KOH 5M. A temperatura foi mantida em 30°C e o oxigênio dissolvido em um valor mínimo de 30% em relação à saturação. Como métodos convencionais de quantificação, as concentrações celulares foram determinadas diretamente por peso seco e indiretamente a partir de curva correlacionando biomassa seca de Bti com absorvância medida em espectrofotômetro. A fração molar de oxigênio no fluxo de saída do biorreator foi medida em oxímetro (DIGIMED, Brasil). Com este dado, além da pressão e temperatura dos gases efluentes, a demanda de oxigênio pelo cultivo (OUR) pôde ser determinada por balanço gasoso. Os valores das constantes YGO (fator de conversão de oxigênio em células = 0,045g células/mmol O₂) e mO (coeficiente de manutenção para o O₂ = 1,13 mmol/g/h) foram calculados graficamente. A partir destes parâmetros, concentrações celulares foram estimadas, conforme descrito na literatura para outros processos, e comparadas com os outros métodos utilizados. Observou-se um excelente ajuste entre valores de concentração de biomassa estimados pelo modelo respiratório e os medidos diretamente por gravimetria, sendo determinado, na fase estacionária do cultivo, valores idênticos pelos dois métodos: 11,5g/L. Com o método espectrofotométrico, mediu-se concentração celular de apenas 7g/L, neste mesmo tempo de processo, devido às mudanças morfológicas por que passa o microrganismo durante o cultivo. O estudo permite concluir que o método respiratório fornece uma excelente estimativa da concentração celular, podendo ser usado em situações em que a determinação direta não seja possível.

Palavras-chave: *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*, determinação de concentração celular, determinação de concentração celular balanço de oxigênio

Apoio: UCS, CNPq