

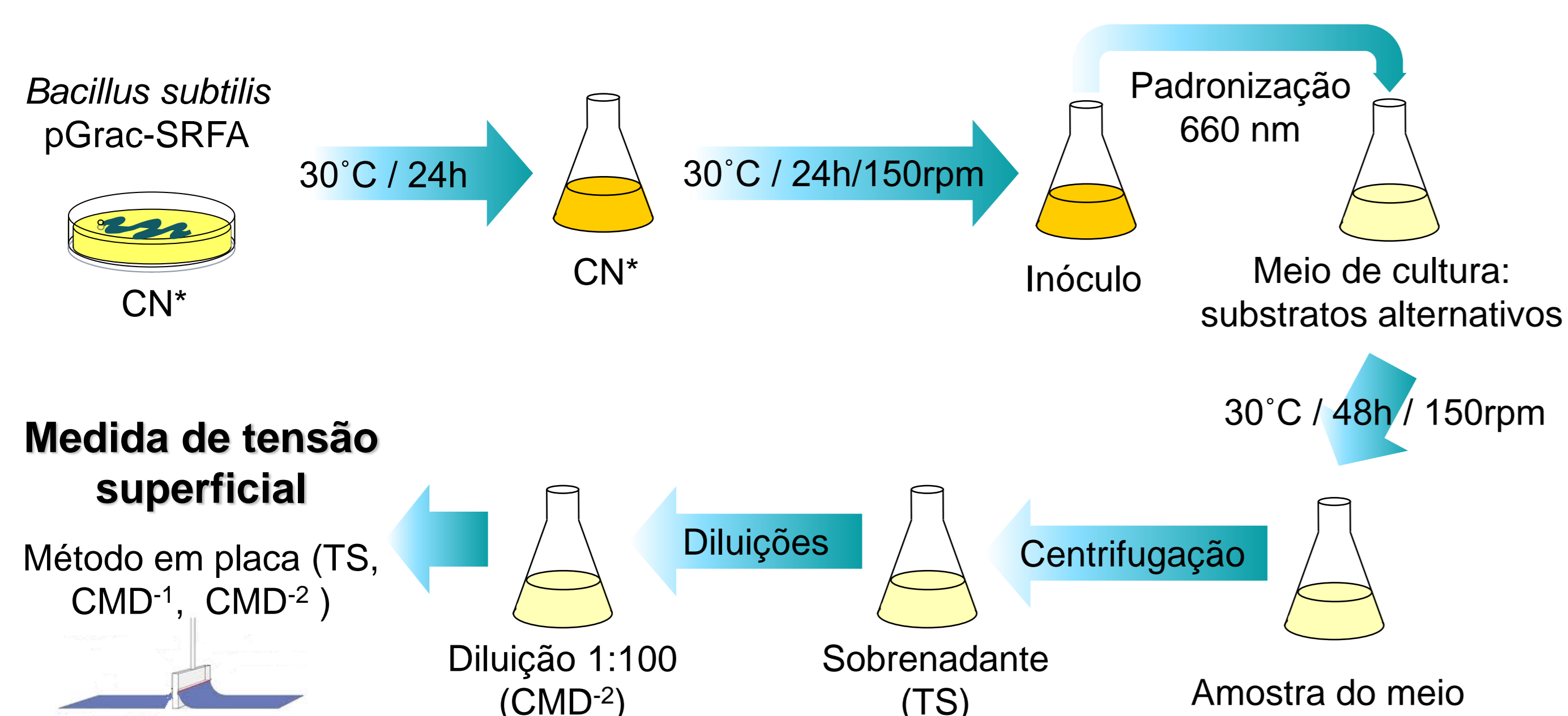
Introdução e Objetivos

Biosurfactantes são compostos tensoativos produzidos por vários micro-organismos. Nos últimos anos, o interesse em biosurfactantes foi aumentado notavelmente devido a muitas vantagens em comparação aos seus homólogos químicos, incluindo baixa toxicidade, biodegradabilidade, aceitabilidade ecológica, atividade específica em condições extremas, além de sua vasta gama de atividades biológicas incluindo atividades bactericidas, fungicidas, antivirais e antitumorais, sendo estes potenciais substitutos de emulsificantes para a indústria de alimentos ou de cosméticos [1]. Embora os biosurfactantes apresentem tais vantagens, estes ainda não são utilizados extensivamente na indústria devido aos custos de produção relativamente elevados [2].

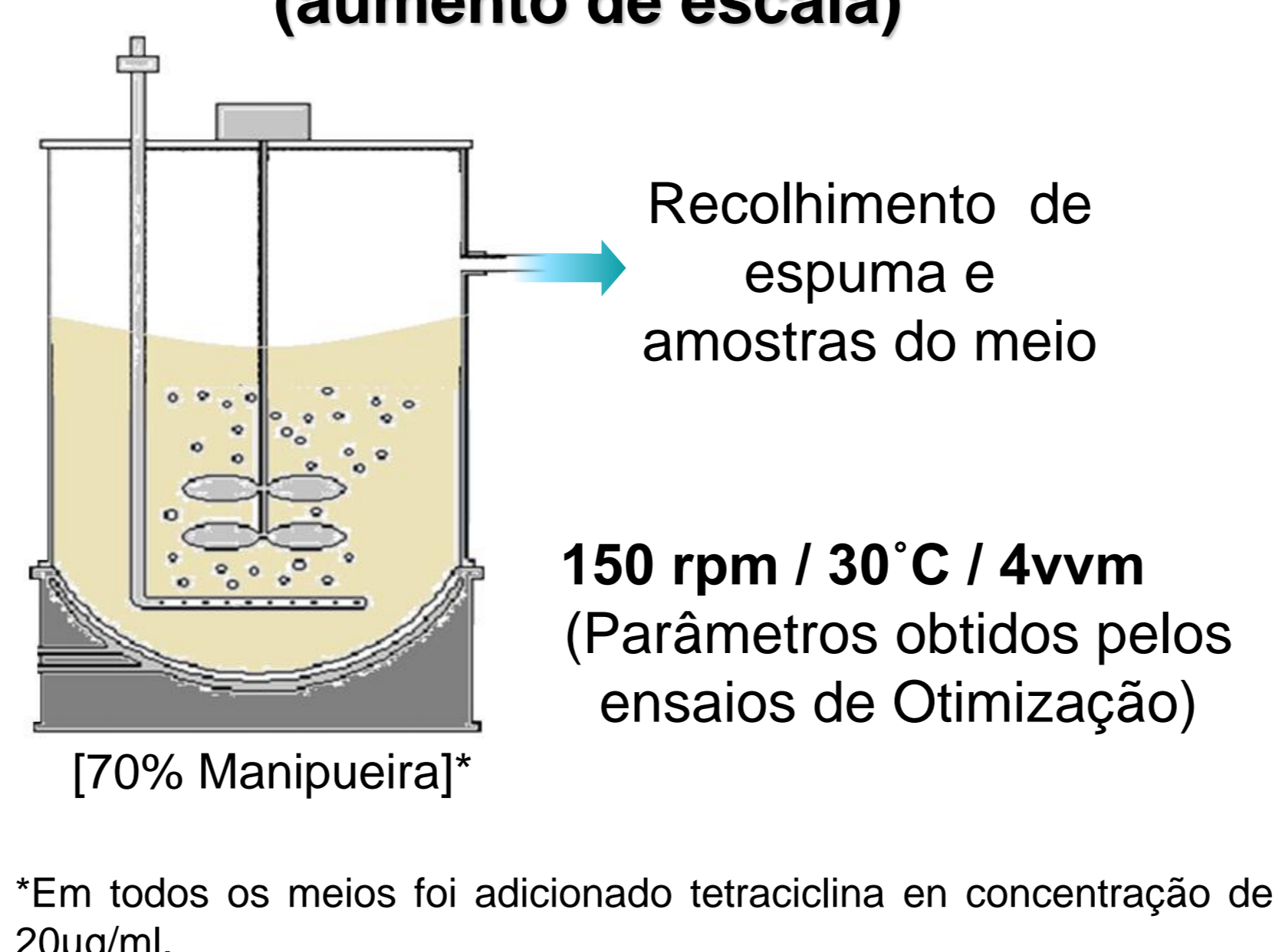
Possíveis estratégias para a redução de custos incluem a utilização de substratos alternativos, tais como os resíduos agroindustriais e aumentar o rendimento da produção por otimização de processos ou técnicas de engenharia genética [3]. Portanto, os objetivos do presente trabalho foram o de avaliar a produção de biosurfactantes por *Bacillus subtilis* pGrac-SRFA, uma cepa geneticamente modificada, em substratos alternativos, a otimização do processo fermentativo, seu aumento de escala e caracterização do biosurfactante obtido (surfactina).

Materiais e Métodos

Preparo do inóculo e fermentação em erlenmeyer



Fermentação em bancada (aumento de escala)



Avaliação dos parâmetros durante a fermentação:

Tensão superficial de TS, CMD-1 e CMD-2, pH, volume de espuma e contagem padrão de células viáveis em ágar nutriente.

Caracterização do biosurfactante:

- Determinação da concentração micelar crítica;
- Estudos de estabilidade frente a pH, temperatura e força iônica;
- Determinação do índice de emulsificação;
- Determinação de atividade antimicrobiana.

Resultados e Discussões

A produção de biosurfactante por *Bacillus subtilis* pGrac-SRFA utilizando diversos substratos alternativos tais como manipueira, soro de leite, vinhaça, meio basal suplementado com azeite de oliva, glicerol resíduo da indústria de biodiesel e óleo de fritura foi avaliada pela medida da tensão superficial dos meios fermentados. Destes, a manipueira apresentou uma maior produção de biosurfactantes que qualquer outro meio testado com tensão superficial próxima a 32,65 $\mu\text{N}\cdot\text{m}^{-1}$. A produção de enzimas amilolíticas e proteolíticas também se mostrou melhor neste meio.

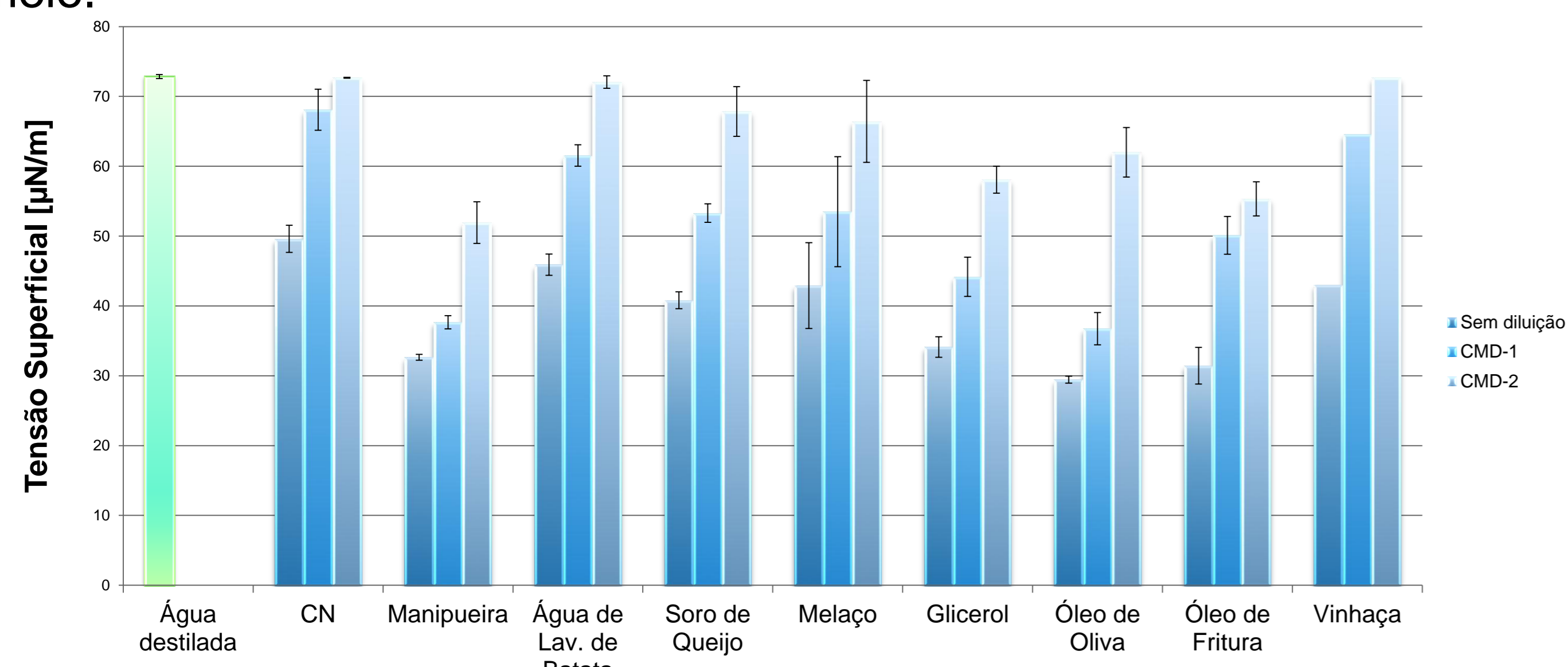


Figura 1. Gráfico das tensões superficiais dos meios de cultura analisados.

Então foi realizado um estudo de otimização das variáveis do processo fermentativo. Conclui-se que as melhores condições são 70% de manipueira, 150 rpm de agitação e 30°C de temperatura.

A partir destes resultados foram realizadas fermentações em um fermentador de bancada e foram calculados os rendimentos destas.

A caracterização do biosurfactante foi realizada através da determinação da concentração micelar crítica (0,5 g/L – Figura 2), estudos de estabilidade frente a pH (relativamente estável entre 4,5 e 12,0), força iônica (estável em soluções com até 20% de NaCl) e temperatura (estável a 100°C por 120 minutos – Figura 3, e a 121°C por 60 minutos).

Na determinação do índice de emulsificação, os resultados obtidos foram inferiores aos do surfactante sintético dodecil sulfato de sódio, porém, o biosurfactante apresentou boa estabilidade de emulsão mesmo após 170 horas.

A atividade antimicrobiana foi realizada por meio de ensaio quantitativo pela concentração inibitória mínima (MIC). Para os fungos filamentosos *A. alternata*, *P. infestans* e a bactéria *P. aeruginosa* não foi visualizada inibição do crescimento nas concentrações testadas, portanto o seu MIC é maior do que 10mg.mL⁻¹. Já para as bactérias *B. cereus*, *S. aureus*, *E. coli* e *S. marcescens* foi evidenciada atividade antimicrobiana (Tabela 1).

Tabela 1. MIC do biosurfactante produzido.

	<i>B. cereus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. marcescens</i>	<i>S. aureus</i>
MIC (mg.mL ⁻¹)	0,8	5	10	6

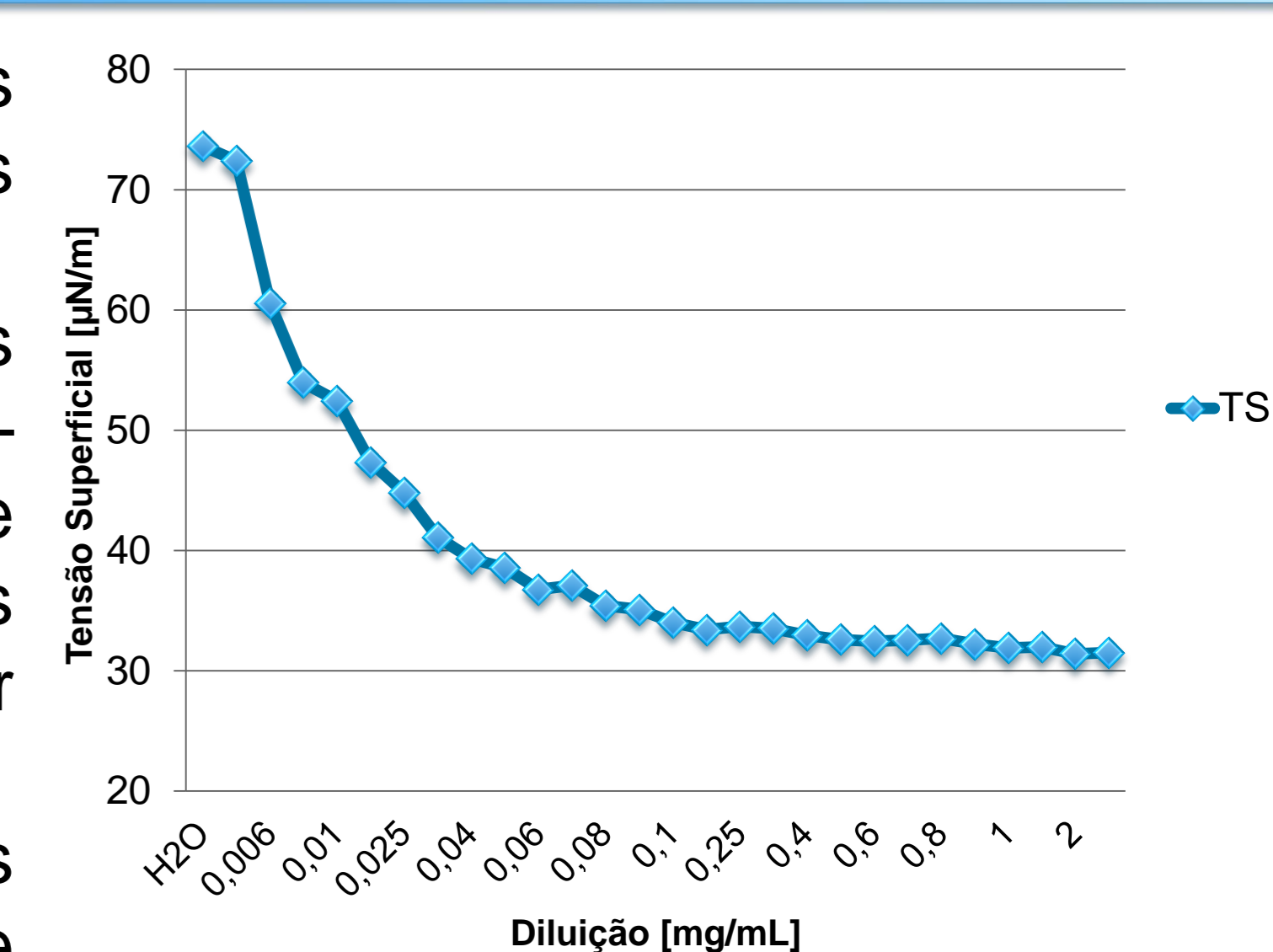


Figura 2. Determinação de CMC.

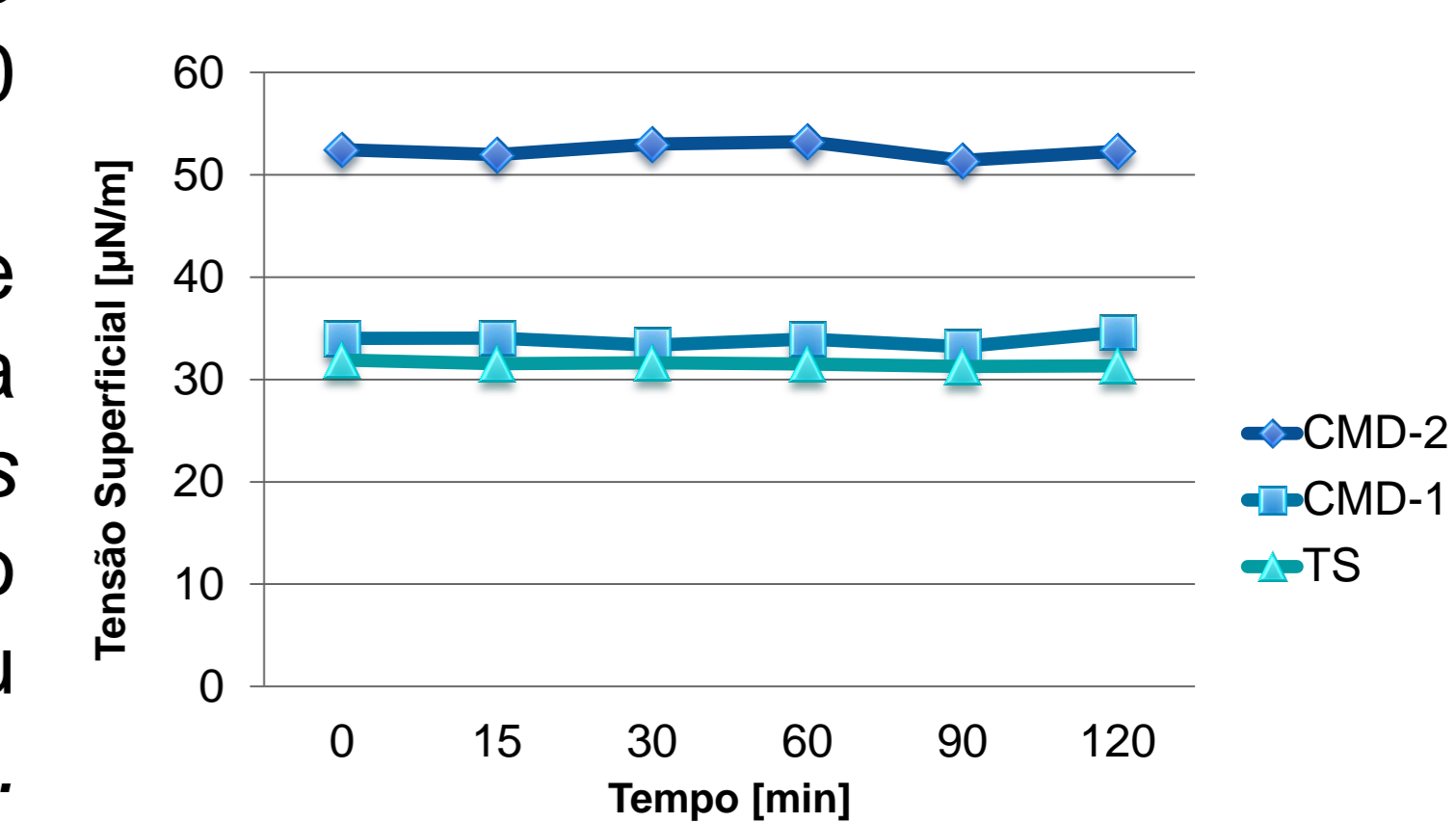


Figura 3. Tensão superficial do biosurfactante submetido ao tratamento térmico a 100° C.

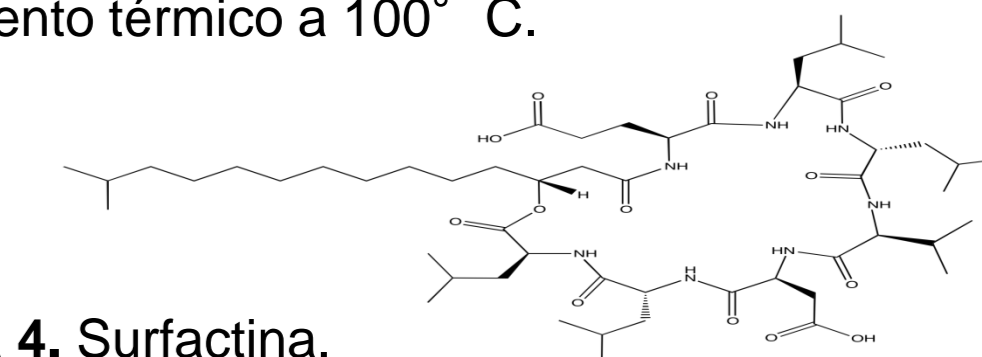


Figura 4. Surfactina.

Referências

1. BARROS, F. F. C.; QUADROS, C. P.; PASTORE, G.M. Propriedades emulsificantes e estabilidade do biosurfactante produzido por *Bacillus subtilis* em manipueira. Ciênc. Tecnol. Aliment. 28(4): 979-985, 2008.
2. COSTA, G.A.N. Produção biotecnológica de surfactante de *Bacillus subtilis* em resíduo agroindustrial, caracterização e aplicações. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.
3. FIECHTER, A. Biosurfactants: moving towards industrial application. Trends Biotechnol. 10:208-217, 1992.

Agradecimentos

Conclusão

Os resultados indicam que a linhagem modificada possui grande potencial como produtora de biosurfactantes, especialmente em meios contendo resíduos agroindustriais, porém mais estudos precisam ser realizados já que está é uma linhagem muito instável.

Através dos resultados de caracterização do biosurfactante, pode-se concluir que este apresenta boas propriedades o que possibilita sua potencial aplicação em diversos setores da indústria.

Portanto, com o desenvolvimento de técnicas biotecnológicas há uma possibilidade real de se produzir biosurfactantes em um volume economicamente viável, gerando interesse industrial.