



XXII CONGRESSO
BRASILEIRO DE
ENGENHARIA QUÍMICA
23 a 26 de Setembro de 2018
Hotel Maksoud Plaza
São Paulo – SP



XVII ENCONTRO BRASILEIRO
SOBRE O ENSINO DE
ENGENHARIA QUÍMICA
27 a 28 de Setembro de 2018
USP
São Paulo – SP

BIOSSURFACTANTE PRODUZIDO PELA LEVEDURA *Candida utilis*: PRODUÇÃO E ISOLAMENTO

RIBEIRO BG¹, MEDEIROS AO², GUERRA JMC³ e SARUBBO LA²

¹ Universidade Federal de Pernambuco, Centro Biociências, Departamento Antibióticos

² Universidade Católica de Pernambuco, Centro de Ciência e Tecnologia

³ Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Tecnologia e Geociência, Departamento de Engenharia Química.

E-mail para contato: beatrizgaldinoribeiro@gmail.com

RESUMO – *Este trabalho objetivou produzir e isolar o biossurfactante a partir da levedura *Candida utilis*. Foi medida a tensão superficial e interfacial, calculado o E_{24} e estudado vários métodos de extração, obtendo-se, respectivamente, $35,33 \pm 0,19$, $2,53 \pm 0,02$ $mN.m^{-1}$ e $37,04 \pm 0,00\%$ com o óleo de girassol. Já os rendimentos variaram de 13,1 a 48,2 $g.L^{-1}$, concluindo-se que o biossurfactante produzido apresenta boa capacidade de redução da tensão superficial e interfacial, podendo ser utilizado em diversos sistemas para solubilização de substratos hidrofóbicos.*

1. INTRODUÇÃO

Os biossurfactantes são compostos anfipáticos com a capacidade de reduzir a tensão superficial e interfacial e formar microemulsões, podendo ser utilizados em diversos setores industriais (SANTOS *et al.*, 2016). Dentre os micro-organismos que produzem biossurfactantes está a levedura *Candida utilis*, que não apresenta risco de toxicidade e patogenicidade devido a seu *status* GRAS (Generally Regarded As Safe), produzindo estes compostos a partir de substratos oleaginosos, incluindo resíduos agroindustriais (CAMPOS *et al.*, 2014; 2015).

Os tensoativos microbianos apresentam grande potencial de aplicação em diversos setores, sendo utilizados com o objetivo de aumentar a solubilidade e/ou biodegradação de hidrocarbonetos, melhorarem a viscosidade e inibir o crescimento de micro-organismos patogênicos (BAKHSI *et al.*, 2017). Diante do exposto, este trabalho teve por objetivo produzir um biossurfactante por meio da ação da levedura *Candida utilis*, avaliando-se a tensão superficial e interfacial e índice de emulsificação em diferentes óleos, bem como isolá-lo por meio de diferentes métodos de extração descritos na literatura.

2. METODOLOGIA

2.1. Produção do biossurfactante

Para crescimento do inóculo, a levedura *Candida utilis* UFPEDA1009 (YMA a 4°C) foi



XXII CONGRESSO
BRASILEIRO DE
ENGENHARIA QUÍMICA
23 a 26 de Setembro de 2018
Hotel Maksoud Plaza
São Paulo – SP



XVII ENCONTRO BRASILEIRO
SOBRE O ENSINO DE
ENGENHARIA QUÍMICA
27 a 28 de Setembro de 2018
USP
São Paulo – SP

transferida para o meio YMB (200 rpm a 28°C por 24 horas). Em seguida, foi realizado inóculo (2,0%) no meio após contagem (Câmara de Neubauer), incubado a 28°C e 150 rpm por 88h. O meio foi composto de 0,20% de NH_4NO_3 , 0,01% de KH_2PO_4 , 0,50% de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,01% de FeCl_3 , 0,01% de NaCl e 0,30% de extrato de levedura, com adição de 6,00% de óleo de fritura de canola e 6,00% de glicose, com pH final de 5,7 (CAMPOS *et al.*, 2014).

2.2. Determinação da tensão superficial e interfacial e índice de emulsificação

As tensões dos meios foram medidas após centrifugação e filtração com auxílio de um tensiômetro KSV Sigma 700 (Finland) utilizando-se o anel de NOUY, sendo a interfacial medida frente o n-hexadecano. Já o índice de emulsificação após 24 horas (E_{24}) foi determinado conforme Prasanna *et al.* (2012) frente os óleos de milho, soja, canola, girassol e motor.

2.3. Estudo do isolamento do biossurfactante

Foram estudados seis métodos de extração para o isolamento do biossurfactante: Cameron *et al.* (1988), Johny (2013), Bhatia e Saharan (2015), Shah *et al.* (2017) e Derguine-Mecheri *et al.* (2017). Também foi desenvolvida uma metodologia utilizando-se acetato de etila na proporção 1:4 com o meio não centrifugado, realizando-se a extração (2x) seguida de secagem. Para cada método estudado, foram utilizados 100 mL de meio de cultivo.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Tensão superficial e interfacial e índice de emulsificação

Após o processo de produção, a tensão superficial e interfacial do meio foi de, respectivamente, $35,33 \pm 0,19$ e $2,53 \pm 0,02$ $\text{mN} \cdot \text{m}^{-1}$, observando-se que a *C. utilis* possui boa capacidade tensoativa. Segundo Luna *et al.* (2013), surfactantes que são capazes de reduzir a tensão superficial da água de 72 para 35 $\text{mN} \cdot \text{m}^{-1}$ e a tensão interfacial frente o n-hexadecano de 40 para 1 $\text{mN} \cdot \text{m}^{-1}$ são considerados bons agentes. Comparando-se o valor de tensão superficial obtido com os valores apresentados por Almeida *et al.* (2017) utilizando-se a *C. tropicalis* UCP0996 em um meio contendo 2,5% de melaço de cana-de-açúcar, 2,5% de óleo de fritura e 2,5% de licor de milho, os valores são bastante próximos: $34,12 \pm 0,07$ $\text{mN} \cdot \text{m}^{-1}$ (biorreator 2 L) e $35,60 \pm 0,05$ $\text{mN} \cdot \text{m}^{-1}$ (biorreator 50 L). Em relação à tensão interfacial, de acordo com Santos *et al.* (2016), esta é considerada baixa para valores abaixo de 7 $\text{mN} \cdot \text{m}^{-1}$. Assim, pode ser considerada suficientemente efetiva a ação do biossurfactante produzido por esta levedura.

Já o índice de emulsificação (E_{24}) apresentou valores percentuais com os óleos de canola, soja, milho, girassol e motor de, respectivamente, $35,19 \pm 0,03$, $35,19 \pm 0,08$, $35,19 \pm 0,03$, $37,04 \pm 0,00$ e $36,94 \pm 0,03\%$. Avaliando-se os valores, todos apresentaram-se abaixo de 40%, sendo o maior E_{24} obtido com o óleo de girassol ($37,04 \pm 0,00\%$). Comparando-se com a literatura, Luna *et al.* (2015) obtiveram E_{24} com o biossurfactante produzido pela *C. sphaerica* UCP0995, de $78,12 \pm 0,37\%$, $21,74 \pm 0,41\%$ e $24,0 \pm 0,53\%$, para os óleos de motor, milho e soja, respectivamente, utilizando-se meio suplementado com 9,0% de resíduo de óleo de soja e 9,0% de licor de milho. Apenas com os óleos vegetais os resultados mostraram-se semelhantes aos obtidos.



XXII CONGRESSO
BRASILEIRO DE
ENGENHARIA QUÍMICA
23 a 26 de Setembro de 2018
Hotel Maksoud Plaza
São Paulo - SP



XVII ENCONTRO BRASILEIRO
SOBRE O ENSINO DE
ENGENHARIA QUÍMICA
27 a 28 de Setembro de 2018
USP
São Paulo - SP

3.2. Isolamento do biossurfactante

A avaliação dos métodos de extração objetiva concluir qual deles resulta em um maior rendimento e melhor aspecto do produto com maior viabilidade, sendo os resultados apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Rendimento e aspecto do biossurfactante isolado por cada método de extração

Referência	Solvente	R referência	R obtido	Aspecto
Cameron <i>et al.</i> , 1988	Etanol (95%) + Ác. Acético (1%)	17,8 g.g ⁻¹	48,2 g.L ⁻¹	Granuloso
Bhatia; Saharan, 2015	Acetato de etila PA	—	36,5 g.L ⁻¹	Oleoso
Johny, 2013	Acetona PA	10 g.L ⁻¹	21,1 g.L ⁻¹	Oleoso e granuloso
Shahet <i>al.</i> , 2017	Acetato de etila PA	19 - 32 g.L ⁻¹	38,8 g.L ⁻¹	Oleoso
Derguine-mecheri <i>et al.</i> , 2017	Acetato de etila PA	12 g.L ⁻¹	13,1 g.L ⁻¹	Oleoso
Desenvolvido em laboratório	Acetato de etila PA	—	24,1 g.L ⁻¹	Oleoso

O maior rendimento obtido (48,2 g.L⁻¹) foi com o método de Cameron *et al.* (1988) utilizando-se o solvente na proporção 3:1 com o meio centrifugado. Utilizando-se acetato de etila, foi possível obter os biossurfactantes na forma oleosa, porém com rendimentos menores. Em geral, a escolha do método de extração é função do tipo de aplicação a que se destina o biossurfactante produzido, devendo ser considerados diversos aspectos como a viabilidade do método e aspecto do extrato bruto obtido.

4. CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos, o biossurfactante produzido pela levedura *Candida utilis* apresenta-se como potencial substituinte de surfactantes sintéticos, uma vez que apresenta boa capacidade de redução das tensões superficial e interfacial, podendo ser utilizado na solubilização de diversos compostos hidrofóbicos.



XXII CONGRESSO
BRASILEIRO DE
ENGENHARIA QUÍMICA
23 a 26 de Setembro de 2018
Hotel Maksoud Plaza
São Paulo – SP



XVII ENCONTRO BRASILEIRO
SOBRE O ENSINO DE
ENGENHARIA QUÍMICA
27 a 28 de Setembro de 2018
USP
São Paulo – SP

5. REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, DG, SILVA RCFS, LUNA JM, RUFINO RD, SANTOS VA, SARUBBO LA, Response Surface Methodology for Optimizing the Production of Biosurfactant by *Candida tropicalis* on Industrial Waste Substrates. *Front Microbiol*, v. 8, n. 157, p. 1-13, 2017.
- BAKSHI N, SOLEIMANIAN-ZADA S, SHEIKH-ZEINODDIN M, Dynamic surface tension measurement for the screening of biosurfactants produced by *Lactobacillus plantarum* subsp. *Plantarum* PTCC 1896. *Enzyme Microbiol Technol*, v. 101, p. 1–8, 2017.
- BHATIA V, SAHARAN BS, Isolation and characterization of glycolipid biosurfactant produced by *Saccharomyces cerevisiae* LF14 isolated from leather factory, *J Microbiol, Biotechnol Food Sci.*, v. 1, n. 2, p. 22-27, 2015.
- CAMERON DR, COOPER DG, NEUFELD RJ, The mannoprotein of *Saccharomyces cerevisiae* is an effective bioemulsifier, *Appl Environ Microbiol*, v. 54, p. 1420-1425, 1988.
- CAMPOS JM, STAMFORD TLM, RUFINO RD, LUNA JM, STAMFORD TCM, SARUBBO LA, Formulation of mayonnaise with the addition of a bioemulsifier isolated from *Candida utilis*. *Toxicol Reports*, v.2, p. 1164-1170, 2015.
- CAMPOS JM, STAMFORD TLM, SARUBBO LA, Production of a Bioemulsifier with Potential Application in the Food Industry, *Appl Biochem Biotechnol*, v. 172, p. 3234 – 3252, 2014.
- DERGUINE-MECHERI L, KEBBOUCHE-GANA S, KHEMILI-TALBI S, DJENANE D, Screening and biosurfactant/bioemulsifier production from a high-salt-tolerant halophilic *Cryptococcus* strain YLF isolated from crude oil, *J Petrol Sci Eng*, p. 1-13, 2017.
- JOHNY JM, Inhibitory effect of biosurfactant purified from probiotic yeast against biofilm producers, *J Environ Sci*, v. 6, n. 1, p. 51-55, 2013.
- LUNA JM, RUFINO RD, JARA AMAT, BRASILEIRO PPF, SARUBBO LA, Environmental applications of the biosurfactant produced by *Candida sphaerica* cultivated in low-cost substrates. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp*, v. 480, p. 413–418, 2015.
- LUNA JM, RUFINO RD, SARUBBO LA, CAMPOS-TAKAKI GM, Characterization, surface properties and biological activity of a biosurfactant produced from industrial waste by *Candida sphaerica* UCP0995 for application in the petroleum industry. *Colloids Surf B Biointerf*, v. 102, p. 202– 209, 2013.
- PRASANNA PHP, BELLA, GRANDISON AS, Emulsifying, rheological and physicochemical properties of exopolysaccharide produced by *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* CCUG 52486 and *Bifidobacterium infantis* NCIMB 702205. *Carbohydr Polym*, v. 90, p. 533–540, 2012.
- SANTOS DKF, LUNA JM, RUFINO RD, SANTOS VA, SARUBBO LA, Biosurfactants: Multifunctional Biomolecules of the 21st Century. *Int J Mol Sci*, v.17, p.401-430, 2016.
- SHAH MUH, SIVAPRAGASAM M, MONIRUZZAMANA M, TALUKDER MDMR, YUSUP SBT, GOTO M, Production of sophorolipids by *Starmerella bombicola* yeast using new hydrophobic substrates. *Biochem Eng J*, v. 127, p. 60–67, 2017.