

# INFLUÊNCIA DAS FONTES DE CARBONO E NITROGÊNIO NA PRODUÇÃO DE BIOSSURFACTANTE PELA *RHODOTORULA LARYNGIS*

H. A. CAMARGO<sup>3</sup>; T. G. C. SOUSA<sup>1</sup>; T. A. PINHEIRO<sup>2</sup>; E. B. TAMBOURGI<sup>1</sup>; L. D. SETTE<sup>4</sup>; A. PESSOA JR.<sup>5</sup>; V. L. CARDOSO<sup>2</sup>; U. COUTINHO-FILHO<sup>2</sup> e E. SILVEIRA<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química.

<sup>2</sup>Universidade Federal de Uberlândia, Faculdade de Engenharia Química.

<sup>3</sup>Universidade Federal de Uberlândia, Instituto de Genética e Bioquímica.

<sup>4</sup>Universidade Estadual Paulista Campus Rio Claro, Departamento de Bioquímica e Microbiologia.

<sup>5</sup>Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas. E-mail para contato: almeidacamargoster@gmail.com.br

**RESUMO** – A produção de biosurfactantes, advém de microrganismos que são biodegradáveis, biocompatíveis e que possuem baixa toxicidade. Também observa-se que são estáveis em condições extremas como a variação do pH, temperatura e salinidade. O presente trabalho teve como objetivo analisar a influência das fontes de carbono e nitrogênio na produção do biosurfactante pela levedura *Rhodotorula laryngis*, codificada como L69 e justifica-se devido ao seu interesse ambiental, industrial e farmacêutico. Para análises foram realizados índice de emulsificação em óleo mineral e teste de tensão superficial. Como resultado para as fontes de nitrogênio e carbono: resíduos de abacaxi, resíduos de caju, peptona, extrato de levedura e nitrato de amônia. Após essa seleção de melhores fontes de nitrogênio e carbono já é possível estabelecer planejamos para otimização da produção de biosurfactante, utilizando resíduos agroindustriais como fonte de carbono.

## 1. INTRODUÇÃO

Os biosurfactantes já são utilizados em diversos processos industriais, como na influência em processos de biorremediação (através do metabolismo dos microrganismos promover a diminuição ou erradicação de determinados poluentes em locais de extrema dificuldade), tornando os poluentes biodisponíveis a sua biodegradação; na agricultura agindo no controle biológico; na indústria de alimentos como substituto aos emulsificantes sintéticos em maionese, molhos, sorvetes (BANAT *et al.*, 2000) como também na área de cosméticos já que suas características umectantes o deixa mais compatível com a pele o que gera um menor grau de irritação. (MAIER e SOBERÓN –CHAVEZ, 2000)

Além disso, vale lembrar que os biosurfactantes advém de inúmeras possibilidades de formulações, as quais são principalmente influenciadas pelas fontes de carbono e de nitrogênio, entretanto a presença de fósforo, ferro, manganês e magnésio no meio de cultivo, podem maximizar a produção de biosurfactante. Outros pontos que potencializam o processo

consiste na aferição do pH, temperatura, atmosfera, salinidade, agitação e condução de todo o processo. (BANAT, 1995).

Vale ressaltar que os biossurfactantes, apesarem de serem uma proposta biodegradável, ainda não são produzidos em grande escala para suportar todo o mercado industrial. Assim, visando o melhor custo benefício e praticidade de produção, a utilização de resíduos agroindustriais, como o abacaxi, no meio de cultura proporciona uma economia direta, já que a composição desses resíduos equivalem a 30% dos biossurfactantes. Com isso o presente projeto possui como objetivo a determinar a melhor fonte de carbono e nitrogênio para a otimização do biossurfactante produzidos pela levedura *Rhodotorula laryngis* nos meio de abacaxi e caju.

## 2. MATERIAIS E METODOLOGIAS

### 2.1 Resíduos Agroindustriais

Os resíduos agroindustriais de abacaxi (*Ananas comosus*) foram adquiridos nos mercados locais, onde o abacaxi *in natura* foi lavado com uma solução de hipoclorito de sódio a 10% (v/v) e processado no laboratório. Os resíduos constaram basicamente de de casca e folhas do abacaxizeiro e foram processados em moinho, já os resíduos agroindustriais de caju (*Anacardium occidentale*), passaram pelo mesmo processo e seus resíduos constaram basicamente do pedúnculo do fruto do cajueiro.

### 2.2 Obtenção dos microrganismos

A levedura da Antártica *Rhodotorula laryngis*, codificada por L 69, é proveniente da coleção de culturas da Divisão de Recursos Microbianos do Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas Agrícolas da Universidade Estadual de Campinas (CPQBA/Unicamp).

### 2.3 Influência da fonte de Carbono e Nitrogênio na produção de biossurfactante

Em Erlenmeyers de 200 ml contendo meio YPD modificados para seleção de fonte de carbono e nitrogênio, foram inoculados o microrganismo. Utilizou-se como seleção para fonte de carbono: acetato de sódio, citrato de sódio, glicose, sacarose, peptona, extrato de levedura, extrato de abacaxi e extrato de caju, em quantidade suficiente para atingir a quantidade de 10g/L, a qual é a mesma de açúcares redutores do meio YPD. Já a fonte de nitrogênio foi realizada substituindo o extrato de levedura e peptona, pelos compostos: citrato de amônio, nitrato de amônio, sulfato de amônio, peptona e extrato de levedura, na concentração de 2 g/L. Por fim, para a produção dos meios foi necessário a utilização de uma solução salina com concentração de 10g/L, 5g/L, 2g/L e 0,2g/L de NaCl, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> e MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, respectivamente, com fermentação de 56 horas a 15 °C.

### 2.4 Índice de Emulsificação (E24)

Através da metodologia descrita por Cai et al. (2014) determinou-se o índice de emulsificação, que se baseia na mistura do óleo mineral com a solução aquosa livre de células do caldo fermentativo, na proporção de 1:1. Com o auxílio de um vortex, a mistura foi fortemente agitada e após 24 horas de repouso analisada. A taxa de emulsificação deu-se pela razão entre a altura da parte emulsificada e a altura total, e após convertida em porcentagem.

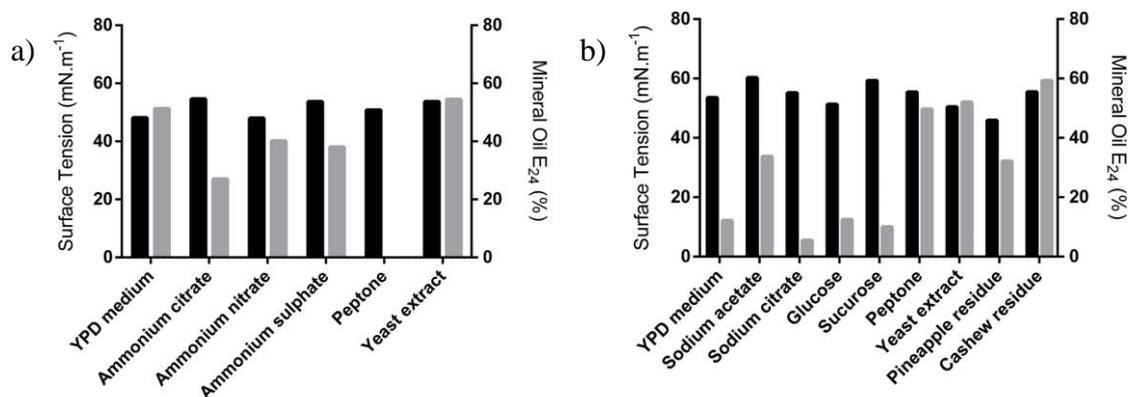
## 2.5 Tensão Superficial

Através do método do anel de du Noüy (1925), determinou-se a tensão superficial, a qual foi necessário a utilização do tensiômetro modelo K6 (Krüss GmbH, Humburgo, Alemanha) para medir a tensão superficial de 10ml de amostra da solução aquosa livre de células do caldo fermentativo à temperatura ambiente.

## 3. RESULTADOS

A figura 1 representa os resultados para o índice de emulsificação e de tensão superficial com o intuito de selecionar as melhores fontes de carbono e nitrogênio para a levedura L69.

Figura 1 – Tensão superficial (mN.M-1) e índice de emulsificação em óleo mineral (%), da levedura L 69 a. em diferentes fontes de nitrogênio; b. Em diferentes fontes de carbono. Legenda: Colunas pretas representam os resultados da tensão superficial e as colunas cinzas representam os dados do índice de emulsificação



Conforme apresentado na figura 1a analisamos que os melhores resultados para o índice de emulsificação foram os que tiveram extrato de levedura e o nitrato de amônia como fonte de nitrogênio. Já para a tensão superficial destacaram o nitrato de amônia e peptona.

A figura 1b demonstra os resultados para a seleção da fonte de carbono que se destacaram para o índice de emulsificação os compostos de extrato de levedura e resíduos de caju e para tensão superficial o melhor resultado obtido foram os resíduos de abacaxi e o extrato de levedura.

A tensão superficial está ligada inversamente proporcional a produção de biossurfactante, enquanto o índice de emulsificação diretamente proporcional. Ambos geram dados que confirmam ou não a produção do biossurfactante. O índice de emulsificação consiste em um teste utilizado para confirmar a produção do biotensioativo no meio estudado, uma vez que já é conhecido que estas biomoléculas são capazes de modificar a hidrofobicidade da superfície celular além de promover a emulsão ou solubilização de soluções de óleo que antes seriam imiscíveis além disso tais biomoléculas são caracterizadas pela redução da tensão superficial. (Beal and Betts, 2000). Contudo há a possibilidade dessa biomolécula não ser produzida, mas mesmo assim presente as demais propriedades, como a capacidade de formar emulsão. (YOUSSEF, et al., 2004).

Com os resultados obtidos, analisamos que as melhores fontes de carbono e nitrogênio que se enquadram em nosso estudo são: resíduos de abacaxi, resíduos de caju, peptona, extrato de levedura e nitrato de amônia.

#### 4. REFERÊNCIAS

BANAT, I. M. Biosurfactant production and use in microbial enhanced oil recovery and possible uses in pollution remediation: A Review. **Bioresource Technology**, n.51, p.1-12, 1995.

BEAL, R.; BETTS, W. B. Role of rhamnolipid biosurfactants in the up take and mineralization of hexadecane in *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Appl. Microbiol.*, [s.l.], v. 89, p. 158-168, 2000.

CAI, Q., ZHANG, B., CHEN, B., ZHU, Z., LIN, W., CAO, T., 2014. Screening of biosurfactante producers from petroleum hydrocarbon contaminated sources in cold marine environments. *Marine pollution bulletin*, vol. 86, pp. 402-410.

DU NOÛY, P.L., 1925. An Interfacial Tensiometer for Universal Use. **The Journal of General Physiology**, vol. 7, pp. 625-633.

MAIER, R. M.; SOBERON-CHAVEZ, G. *Pseudomonas aeruginosa* rhamnolipids: biosynthesis and potential applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [s.l.], v. 54, p. 625-633, 2000.

YOUSSEF, N. H.; DUNCAN, K. E.; NAGLE, D. P.; SAVAGE, K. N.; KNAPP, R. M.; MCLNERNEY, M. J. Comparasion of methods to detect biosurfactant production by diverse microrganism. *Journal of Microbiological Methods*, [s.l.], v. 56, p. 347-399, 2004.