

# COMPARAÇÃO DE MÉTODOS NA AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE BIODERIVADOS

**Carlo Amaral Chanin, Felipe Vieira Camerini, Jorge Alberto Vieira Costa\*, Janaina Fernandes de Medeiros Burkert\*\***

*Laboratório de Engenharia Bioquímica, Laboratório de Engenharia de Bioprocessos,  
Curso de Engenharia de Alimentos, Fundação Universidade Federal do Rio Grande*

\*Email: [jorgealbertovc@aol.com.br](mailto:jorgealbertovc@aol.com.br)

\*\*Email: [jfmb@vetorial.net](mailto:jfmb@vetorial.net)

## RESUMO

Surfactantes são moléculas de caráter anfipático, constituídas de uma parte hidrofílica e outra hidrofóbica. A presença de grupos hidrofílicos e hidrofóbicos na mesma molécula possibilita a interação destes compostos nas interfaces de fases fluidas com diferentes graus de polaridade. Os surfactantes de origem microbiana são conhecidos como biossurfactantes e vem ganhando atenção por apresentar vantagens frente aos surfactantes sintéticos, dentre elas se destacam a biodegradabilidade, a baixa toxicidade, tolerância a condições críticas de pH e temperatura, podendo ser mais efetivos que os surfactantes convencionais. Dois métodos de avaliação da produção de biossurfactantes, drop – collapse e atividade emulsificante, foram comparados de acordo com a validação das respostas de capacidade de redução superficial dos biossurfactantes produzidos pelo fungo *Phaeoacremonium* sp. através de fermentação em estado sólido, utilizando dois meios de fermentação, um contendo farelo de trigo e outro farelo de arroz e casca de arroz. Através das análises feitas no decorrer das fermentações, foi possível observar a melhor viabilidade das respostas obtidas através do método de drop-collapse, em relação ao método de atividade emulsificante, visto que o método de atividade emulsificante proporcionou dificuldades de execução e reprodutibilidade das respostas.

Palavras-chave: drop-collapse, atividade emulsificante, biossurfactante.

## 1 INTRODUÇÃO

Surfactantes são moléculas anfipáticas, ou seja, possuem uma porção hidrofílica e outra hidrofóbica claramente distintas e quando produzidos por microrganismos são denominadas biossurfactantes.

Um grande número de organismos, desde plantas, microrganismos e o próprio corpo humano podem produzir compostos de superfície ativa. Os microrganismos capazes de produzir biossurfactantes são bactérias, fungos e leveduras.

Estas substâncias possuem a capacidade de reduzir a tensão superficial e interfacial do meio, exibindo forte poder emulsificante de compostos hidrofóbicos e formando emulsões estáveis. Apresentam ainda a vantagem de serem biodegradáveis, de baixa toxicidade e de grande especificidade, podendo ainda se adaptar ao meio em função das condições ambientais encontradas.

Existem diferentes métodos que podem ser aplicados na detecção de biossurfactantes como a tensão superficial, a atividade emulsificante, peso da gota e drop-collapse. Porém, alguns destes métodos podem apresentar desvantagens.

Associando o método de atividade emulsificante com tensão superficial, mesmo havendo uma correlação entre eles, a habilidade da molécula de formar uma emulsão estável não está sempre associada com a diminuição da tensão superficial. A hidrofobicidade das superfícies de células é um aspecto importante na adesão superficial das células bacterianas. Desde que superfícies hidrofóbicas são geralmente associadas à moléculas com baixa energia

superficial. Neu e Poralla (1990) utilizou esta propriedade para demonstrar a produção de biosurfactantes. Pruth e Cameotra (1997) encontrou uma relação direta entre hidrofobicidade e produção de biosurfactante.

## 2 DESENVOLVIMENTO

### 2.1 Material e Métodos

#### 2.1.1 Fermentação

As fermentações foram realizadas em triplicatas utilizando Erlenmeyers de 1000 mL e foram avaliados dois meios fermentativos. O primeiro composto por 15% de casca de arroz e 85% de farelo de arroz desengordurado. O farelo foi moído em moinho de facas, peneirado, e utilizada a granulometria entre 0,420 e 0,500 mm (RODRIGUES *et al*, 2002). Foi adicionado ao meio de cultivo uma solução de nutrientes com 0,5 g de  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 3 g de  $NaNO_3$ , 1 g de  $KH_2PO_4$ , 1 g de extrato de levedura e 0,3 g de peptona em 1 L. O segundo meio fermentativo foi constituído por farelo de trigo na mesma faixa de granulometria e complementado com a mesma solução de nutrientes que o meio de fermentação anterior. Foram utilizadas as condições de pH, umidade, temperatura e fonte adicional de carbono de 4,5, 50%, 30°C e óleo de soja, respectivamente.

As amostras foram coletadas a cada 24 h para acompanhamento da atividade emulsificante e drop-collapse.

#### 2.1.2 Extração do Biosurfactante

A extração do biosurfactante do meio fermentativo foi realizada com água à 50°C na proporção 1:10 (p/v). Após a adição do solvente, a amostra foi submetida à agitação em Incubador Rotatório B. BRAUN CERTOMAT BS-1 com 160 rpm, 50°C por 30 min, sendo posteriormente filtrada a vácuo.

#### 2.1.3 Atividade Emulsificante

A atividade emulsificante foi determinada adicionando-se em tubo de ensaio de 10 x 100 mm, 3,5 mL do filtrado obtido na extração do biosurfactante e 2 mL de óleo de soja. Para a determinação da atividade emulsificante água em óleo deixa-se a emulsão em repouso por 24 h, fazendo-se a leitura da altura da emulsão formada e do halo formado. A atividade emulsificante é expressa pela razão entre o halo formado e a altura da emulsão. A Figura 1 apresenta o diagrama esquemático para este tipo de emulsão formada. A atividade emulsificante foi expressa em Unidades Emulsificantes (UE).

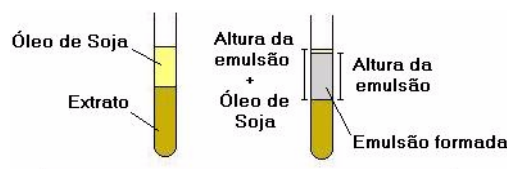


Figura 1 Diagrama esquemático da atividade emulsificante para a emulsão água em óleo.

### 2.1.4 Drop-collapse

A metodologia proposta para a análise do Drop-collapse baseia-se na adição de uma gota sobre uma superfície hidrofóbica para posteriormente ser realizada a medida da superfície da gota. A superfície ocupada pela gota aumenta proporcionalmente com o aumento da concentração de biossurfactante, sendo utilizada uma curva padrão para relacionar a concentração de biossurfactante na amostra. As amostras foram coletadas durante a fermentação em 0, 24, 48, 72, 96, 120 e 144 h. As gotas foram adicionadas com o auxílio de uma micro-seringa contendo um volume de 5 $\mu$ L. Parafilm foi utilizado como meio hidrofóbico para aplicação das gotas. As gotas foram medidas pós uma hora utilizando-se o software Image Tool versão 3.0.

### 2.2 Resultados e Discussão

Um exemplo da detecção de biossurfactante por drop-collapse está demonstrado na Figura 2 (a) e na Figura 2 (b) a Atividade emulsificante.

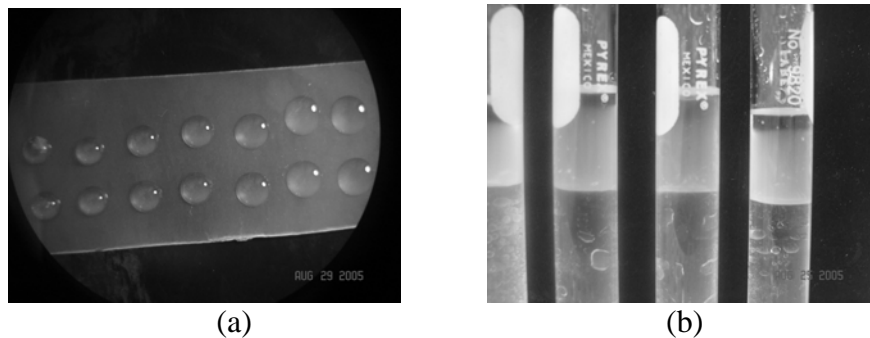


Figura 2 Método Drop-collapse (a) e Atividade Emulsificante (b).

As figuras 3 representam respectivamente o acompanhamento da produção de biossurfactante através dos métodos de Atividade Emulsificante e drop-collapse.

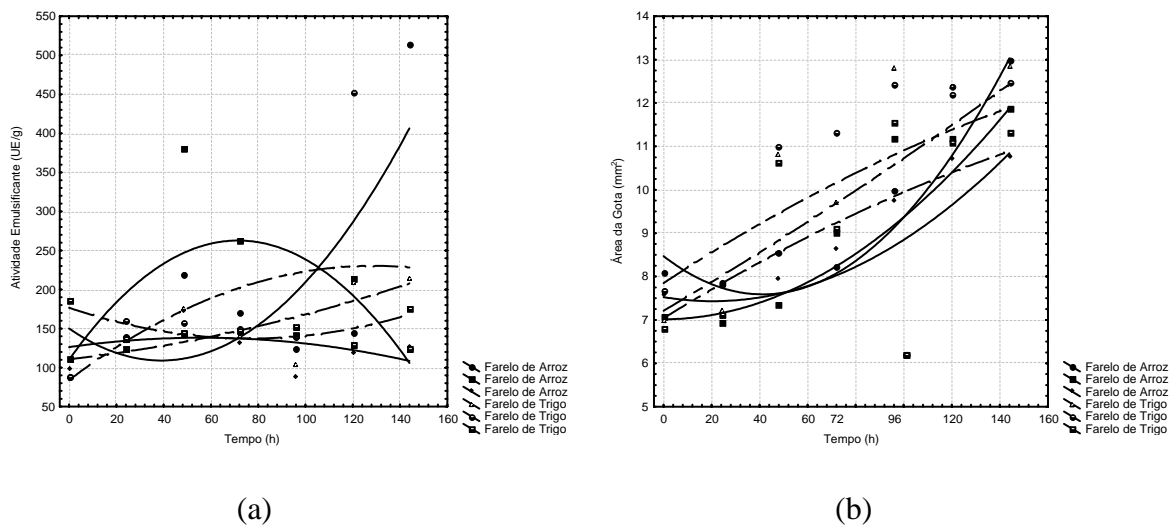


Figura 3: Gráfico de Atividade Emulsificante (a) e Drop-collapse (b).

Baseando-se nos valores expressados nos gráficos acima se pode observar que não há uma correlação entre os dois métodos. Os resultados da atividade emulsificante não apresentaram um comportamento esperado, diferente dos resultados observados no gráfico do

método de drop-collapse o qual apresenta um crescimento da área da gota ao longo do tempo de fermentação, o qual era esperado devido o aumento da concentração de biossurfactante.

### 3 CONCLUSÃO

Através dos resultados encontrados pode-se observar que o método drop-collapse proporciona valores mais significativos, enquanto o método de atividade emulsificante não proporciona esta mesma confiabilidade.

### 4 REFERÊNCIAS

BODOUR, A. A., MILLER-MAIER, R. M. Application of a modified drop-collapse technique for surfactant quantitation and screening of biosurfactant-producing microorganisms

COOPER, D.G., GOLDENBERG, B.G., 1987. Surface-active agents from two *Bacillus* species. *Appl. Environ. Microbiol.* 53 (2), 224– 229.

DENGER, K., SCHINK, B., 1995. New halo- and thermotolerant fermenting bacteria producing surface-active compounds. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 44, 161– 166.

KUIPER, I., LAGENDIJK, E. L., PICKFORD, Russell, DERRICK, Jeremy P., LAMERS, Gerda E. M., THOMAS-OATES, Jane E., LUGTENBERG, LUGTENBERG, Ben J. J. Characterization of two *Pseudomonas putida* lipopeptide biosurfactants, putisolvin I and II, which inhibit biofilm formation and break down existing biofilms. *Molecular Microbiology* (2004) 51 (1), 97–113

PRUTHI, V., CAMEOTRA, S.S., 1997. Rapid identification of biosurfactant- producing bacterial strains using a cell surface hydrophobicity technique. *Biotechnol. Tech.* 11 (9), 671– 674.

VAN DYKE, M.I., GULLEY, S.L., LEE, H., TREVORS, J.T., 1993. Evaluation of microbial surfactants for recovery of hydrophobic pollutants from soil. *J. Ind. Microbiol.* 11, 163–170.

YOUSSEF, Noha H., DUNCAN, Kathleen E., NAGLE, David P., SAVAGE, Kristen N., KNAPP, Roy M., MCINERNEY, Michael J. Comparison of methods to detect biosurfactant production by diverse microorganisms. *Jornal of Microbiologic Methods* (2004) 339-347.