

Área: Ciência de Alimentos

PRODUÇÃO DE BIOSURFACTANTES VIA FERMENTAÇÃO EM ESTADO SÓLIDO UTILIZANDO *Aspergillus* sp.

Luísa Bortoluzzi, Bruna de Almeida Bueno, Bruna Posser Pazzini,
Paloma Morais Carvalho, Tábata Trevizan Chiomento, Christian Oliveira Reinehr,
Luciane Maria Colla*

Laboratório de Fermentações, Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade de Passo Fundo

**E-mail: lmcolla@upf.br*

RESUMO

Os biossurfactantes são moléculas anfipáticas sintetizadas por microrganismos como fungos filamentosos, compostas por uma parte hidrofílica e parte hidrofóbica e devido a esta característica são muito utilizados na indústria alimentícia. Por estas aplicações é importante o desenvolvimento de processos de produção de biossurfactantes para que os tornem competitivos com os surfactantes sintéticos. Objetivou-se avaliar a produção de biossurfactantes a partir de uma cepa de "*Aspergillus*" sp. em fermentação em estado sólido. Primeiramente, utilizou-se um Planejamento Fatorial Completo 2^4 para selecionar as melhores fontes de carbono e nitrogênio e suas concentrações, para a obtenção de elevadas atividades emulsificantes óleo em água (O/A) e água em óleo (A/O). Posteriormente, um Planejamento Fatorial Completo 3^2 foi utilizado para otimizar as concentrações das melhores fontes de nitrogênio e carbono definidas no primeiro planejamento. As fermentações foram realizadas utilizando farelo de soja (85%) e casca de arroz (15%) como matriz do meio de cultivo, adicionada de solução de micronutrientes e das fontes de nitrogênio e carbono, como umidade de 60% e pH de 4,5. Os ensaios foram conduzidos em erlenmeyers de 300 mL durante 8 d a 30 °C. No tempo final, foram realizadas as determinações das atividades emulsificantes, sendo os resultados avaliados através de análise de variância e teste de Tukey para comparação de médias, num intervalo de confiança de 95%. O óleo de soja e a uréia foram as fontes de carbono e nitrogênio que apresentaram os melhores resultados de atividade emulsificante, quando utilizadas em concentrações de 3% a 5%.

Palavras-chave: Fonte de carbono. fonte de nitrogênio. atividade emulsificante.

1 INTRODUÇÃO

Os surfactantes são compostos de caráter anfipático constituídos por uma parte hidrofílica e uma parte hidrofóbica, o que possibilita a interação desses compostos nas

interfaces de fases fluídas óleo/água e água/óleo (NITSCHKE; PASTORE, 2002). Estas moléculas de superfície ativa quando são sintetizadas por microrganismos denominam-se biossurfactantes e adquirem características importantes como a alta biodegradabilidade, baixa toxicidade, são resistentes a altas concentrações salinas e tolerância a pH e temperatura, podendo ser mais efetivos que os surfactantes convencionais (COSTA; MARTINS; PINTO, 2009).

Os critérios utilizados para selecionar microrganismos produtores de biossurfactantes são a habilidade em reduzir a tensão superficial e a capacidade de estabilização da emulsão (BATISTA et al, 2006 apud COSTA; MARTINS; PINTO, 2009). Os fungos filamentosos se desenvolvem através das hifas e apresentam tolerância a baixa atividade de água e elevada pressão osmótica, tornam-os competitivos e eficientes frente à microflora natural para a bioconversão de compostos sólidos, permitindo aos mesmos penetrar nos substratos. Devido a isso, podem ser produzidos via fermentação em estado sólido (FES) que envolve sólidos na ausência ou quase ausência de água livre, mas possuem umidade para suportar o crescimento e metabolismo dos microrganismos (PANDEY, 2003).

A matriz da fermentação em estado sólido para o crescimento de microrganismos utiliza suportes sólidos e nutrientes solúveis em água. A natureza do substrato, o teor de umidade, o microrganismo utilizado e o tipo de produto final desejado são os principais fatores que influenciam o desenvolvimento da fermentação (RAMANA MURTHY, 1993)

Segundo Schmidell (2002), a aceleração na taxa de reação devido ao contato direto entre o substrato e o microrganismo, os substratos simples, necessitando apenas adição de água para correção de umidade e adição de solução de micronutrientes são algumas vantagens da FES.

A produção de biossurfactantes pode ser induzida pela adição de hidrocarbonetos, substratos insolúveis em água ou carboidratos, substratos solúveis em água, estes compostos estão envolvidos na síntese das porções hidrofóbicas e hidrofílicas, respectivamente. Além disso, os biossurfactantes sofrem influência das fontes de carbono e nitrogênio, pela presença de outros elementos, pH e temperatura são essenciais na qualidade e quantidade dos biossurfactantes produzidos (FONTES; AMARAL; COELHO, 2008). Assim, as variações no meio de cultivo e o uso de diferentes fontes de carbono e nitrogênio afetam as propriedades emulsificantes (FONTES; AMARAL; COELHO, 2008). Diversos compostos nitrogenados têm sido empregados na produção de biossurfactantes, tais como licor de milho, milhocina,

uréia, sulfato de amônia, nitrato de sódio, extrato de carne, farelo soja e extrato de malte. O extrato de levedura é a fonte de nitrogênio mais utilizada para a produção de biossurfactantes (FONTES; AMARAL; COELHO, 2008).

A aplicação atual dos biossurfactantes tem sido focada na área ambiental, em processos de biorremediação. Entretanto, estes biocompostos possuem potencial de aplicação na indústria de alimentos como emulsificantes, o que justifica a realização deste estudo. Objetivou-se estudar a produção de biossurfactantes via fermentação em estado sólido, utilizando o fungo *Aspergillus* sp. cepa O-8.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 MATERIAL E MÉTODOS

O microrganismo *Aspergillus* sp., cepa O-8, disponível no Laboratório de Fermentações do Curso de Engenharia de Alimentos, foi utilizado. O preparo do inóculo foi realizado em erlenmeyers de 1 L contendo meio ABD solidificado e incubado a 30°C por 7 d. O meio para fermentação em estado sólido foi preparado com 85,7% de farelo de soja e 14,3% de casca de arroz. A esta matriz adicionou-se 71% (v/p) de solução salina para fornecer micronutrientes. O meio de cultivo foi autoclavado por 20 min e posteriormente adicionadas as fontes de nitrogênio e carbono, conforme o Planejamento Fatorial Completo (PFC) 2⁴ (primeira fermentação), mostrado na Tabela 1, e conforme um PFC 3² (Tabela 2). O pH foi corrigido até 4,5 a partir da adição de H₂SO₄ e a umidade foi ajustada até 60% pela adição de água destilada estéril.

Os experimentos foram realizados em erlenmeyers de 300 mL contendo 50 g de meio e inoculados com 2,5 mL de uma suspensão de esporos, a fim de que a concentração inicial de inóculo fosse de 2.10⁶ esporos/g. Foram incubados 16 erlenmeyers na primeira fermentação e 9 erlenmeyers na segunda fermentação, a 30 °C durante 8 d.

Os farelos das fermentações foram submetidos à extração com 5 g de farelo fermentado com 30 mL de água destilada a 90 °C, seguido de extração em banho-maria a 50°C durante 30 min, com posterior filtração em algodão, centrifugação a 6000 rpm por 20 min e nova filtração em papel filtro.

Tabela 1: Matriz do Planejamento Fatorial Completo 2^4 utilizado para a produção de biossurfactante via FES

Exp.	FN (X_1)	FC (X_2)	[FN] (X_3)	[FC] (X_4)
1	Uréia (-1)	AO (-1)	1% (-1)	1% (-1)
2	NS (+1)	AO (-1)	1% (-1)	1% (-1)
3	Uréia (-1)	OS (+1)	1% (-1)	1% (-1)
4	NS (+1)	OS (+1)	1% (-1)	1% (-1)
5	Uréia (-1)	AO (-1)	3% (+1)	1% (-1)
6	NS (+1)	AO (-1)	3% (+1)	1% (-1)
7	Uréia (-1)	OS (+1)	3% (+1)	1% (-1)
8	NS (+1)	OS (+1)	3% (+1)	1% (-1)
9	Uréia (-1)	AO (-1)	1% (-1)	3% (+1)
10	NS (+1)	AO (-1)	1% (-1)	3% (+1)
11	Uréia (-1)	OS (+1)	1% (-1)	3% (+1)
12	NS (+1)	OS (+1)	1% (-1)	3% (+1)
13	Uréia (-1)	AO (-1)	3% (+1)	3% (+1)
14	NS (+1)	AO (-1)	3% (+1)	3% (+1)
15	Uréia (-1)	OS (+1)	3% (+1)	3% (+1)
16	NS (+1)	OS (+1)	3% (+1)	3% (+1)

FN: Fonte de Nitrogênio; FC: Fonte de Carbono; [FN]: Concentração Fonte de Nitrogênio; [FC]: Concentração Fonte de Carbono.

As atividades emulsificantes (AE) óleo em água e água em óleo foram determinadas segundo metodologia proposta por MARTINS et al. (2006), utilizando-se 3,5 mL de extrato e 2 mL de óleo de soja. Após 60 min de repouso leu-se a absorbância da $AE_{O/A}$ em espectrofotômetro (Equação 1) e após 24 h de repouso realizou-se a leitura com paquímetro, gerando a $AE_{A/O}$ de acordo com a Equação 2, sendo: AE = atividade emulsificante (UE); O/A = óleo em água; A/O = água em óleo; ABS = absorbância; E = relação centesimal entre a altura da emulsão água/óleo e a altura total; D = diluição da amostra em água.

$$AE_{O/A} = (ABS_{amostra} - ABS_{branco}).D \quad (1)$$

$$AE_{A/O} = (E_{amostra} - E_{branco}).D \quad (2)$$

Tabela 2: Matriz do Planejamento Fatorial Completo 3^2 utilizado para a produção de biossurfactante via FES

Exp.	[U] (X_1)	[OS] (X_2)
1	1% (-1)	1% (-1)
2	3% (0)	1% (-1)
3	5% (+1)	1% (-1)
4	1% (-1)	3% (0)
5	3% (0)	3% (0)
6	5% (+1)	3% (0)
7	1% (-1)	5% (+1)
8	3% (0)	5% (+1)
9	5% (+1)	5% (+1)

[U]: Concentração Uréia; [OS]: Concentração Óleo de Soja; X_1 : Variável codificada para [U]; X_2 : Variável codificada para [OS].

2.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.2.1 Seleção de variáveis significativas sobre a produção de bioemulsificantes a partir de um PFC 2^4

Os resultados obtidos no Planejamento Fatorial Completo 2^4 estão apresentados na Tabela 3.

Avaliando-se os resultados de AE O/A dos experimentos 1 e 2, 3 e 4 e assim consecutivamente, verifica-se que maiores atividades emulsificantes O/A foram obtidas com uréia como fonte de nitrogênio. Com relação à fonte de carbono, mantendo-se fixas as variáveis FN, [FN] e [FC] e variando-se a fonte de carbono de AO para OS (comparações entre os experimentos 1 e 3; 2 e 4; 5 e 7; 6 e 8; 9 e 11; 10 e 12; 13 e 15; 14 e 16) verifica-se

que na maior parte das comparações as maiores atividades emulsificantes O/A foram obtidos com OS. As maiores atividades O/A foram obtidas respectivamente nos experimentos 7 (3 % de uréia e 1 % de OS) e 15 (3% de uréia e 3% de OS).

Tabela 3: Atividades emulsificantes óleo em água e água em óleo para os experimentos do PFC 2⁴

Exp.	Fonte de Nitrogênio (FN)	Fonte de Carbono (FC)	[FN]	[FC]	AE O/A (UE)		AE A/O (UE)	
					Média ± desvio padrão	Média ± desvio padrão		
1	Uréia	AO	1%	1%	4,93 ± 0,07	83,60 ± 5,65		
2	NS	AO	1%	1%	2,59 ± 0,38	110,90 ± 8,49		
3	Uréia	OS	1%	1%	3,15 ± 0,81	0,00 ± 0,00		
4	NS	OS	1%	1%	2,57 ± 0,06	92,04 ± 0,40		
5	Uréia	AO	3%	1%	3,43 ± 1,98	67,16 ± 5,15		
6	NS	AO	3%	1%	0,63 ± 0,05	94,33 ± 4,92		
7	Uréia	OS	3%	1%	6,06 ± 0,07	189,73 ± 186,92		
8	NS	OS	3%	1%	1,19 ± 0,90	181,36 ± 157,80		
9	Uréia	AO	1%	3%	1,90 ± 2,11	0,00 ± 0,00		
10	NS	AO	1%	3%	3,01 ± 0,48	0,00 ± 0,00		
11	Uréia	OS	1%	3%	3,83 ± 0,375	79,74 ± 9,53		
12	NS	OS	1%	3%	0,37 ± 0,07	0,00 ± 0,00		
13	Uréia	AO	3%	3%	4,40 ± 0,94	46,20 ± 24,47		
14	NS	AO	3%	3%	3,22 ± 0,14	11,27 ± 2,16		
15	Uréia	OS	3%	3%	5,93 ± 0,23	79,75 ± 3,23		
16	NS	OS	3%	3%	0,00 ± 0,00	25,40 ± 25,58		

[FN]- Concentração fonte de nitrogênio; [FC]- Concentração fonte de carbono;

AE O/A – Atividade emulsificante óleo em água;

AE A/O – Atividade emulsificante água em óleo.

Com relação às AE A/O, as maiores atividades foram obtidas nos experimentos 7 (3 % de uréia e 1 % OS) e 8 (3 % NS e 1 % OS), entretanto os coeficientes de variação das análises foram muito elevados (98,5 % e 87 %, respectivamente).

Segundo Cara (2009) o emprego de fontes de carbono insolúveis em água (óleo de soja *in natura* e residual) para a produção de biossurfatante por *Flavobacterium* AU-1 apresentou comportamento semelhante ao evidenciado para a fonte solúvel, neste caso açúcar cristal, visto que os valores mínimos de tensão superficial alcançados foram similares.

A Tabela 4 mostra a análise de variância dos resultados de AE O/A obtidos em função das variáveis do PFC 2⁴. Verifica-se que as interações FNxFCx[FC] e FCx[FN]x[FC] apresentaram significância estatística ($p < 0,05$), devendo ser analisadas.

Tabela 4: Anova dos resultados de AE O/A em função das variáveis do PFC 2⁴

	SQ	GL	QM	F	p
Média	278,840	1,000	278,840	393,861	0,000
FN	50,248	1,000	50,248	70,975	0,000
FC	0,126	1,000	0,126	0,179	0,678
[FN]	0,781	1,000	0,781	1,103	0,309
[FC]	0,449	1,000	0,449	0,634	0,437
FN*FC*[FC]	10,191	1,000	10,191	14,395	0,002
FC*[FN]*[FC]	4,441	1,000	4,441	6,273	0,023

A partir da Figura 1 verifica-se que maiores AE O/A foram obtidas utilizando-se a uréia como fonte de nitrogênio em concentrações de 1% de AO ou OS, e 3% de OS.

A Figura 2 apresenta a interação FCx[FN]x[FC] para a AE O/A, demonstrando que maiores AE O/A foram obtidas utilizando concentração da fonte de nitrogênio de 3%, com exceção dos experimentos realizados com 1% de azeite de oliva como fonte de carbono.

A Tabela 5 apresenta a Anova dos resultados de AE A/O em função das variáveis do PFC 2⁴, verificando-se que foram significativas as variáveis [FN], [FC] e a interação FCx[FN]x[FC], se considerado um intervalo de confiança de 90%.

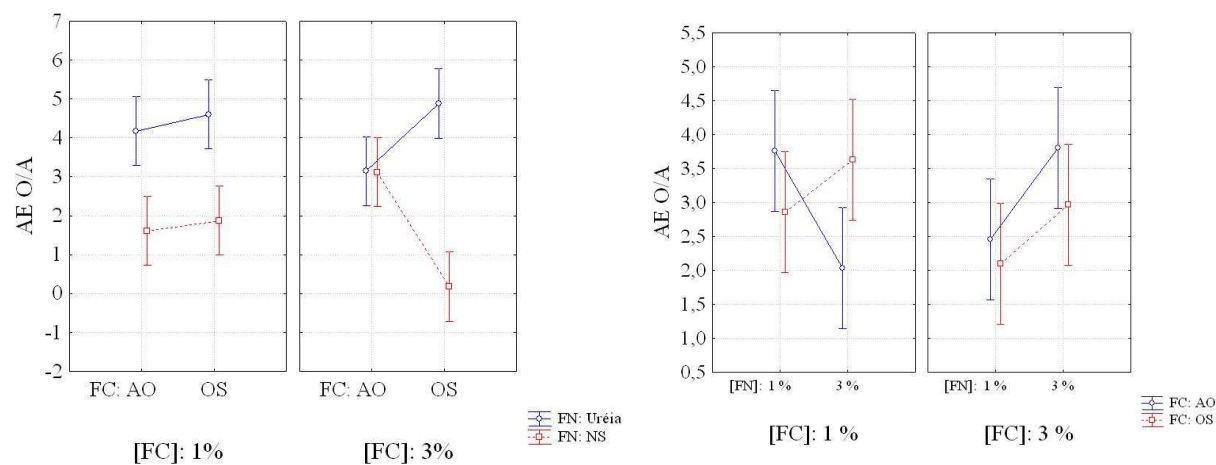


Figura 1: AE O/A em função das variáveis FN, [FC] e FC
Figura 2: AE O/A em função das variáveis FC, [FN] e [FC]

Tabela 5: Anova dos resultados de AE A/O em função das variáveis do PFC 2⁴

	SQ	GL	QM	F	p
Média	140846,193	1,000	140846,193	36,731	0,000
FN	119,136	1,000	119,136	0,031	0,862
FC	6878,217	1,000	6878,217	1,794	0,199
[FN]	13524,804	1,000	13524,804	3,527	0,079
[FC]	41579,260	1,000	41579,260	10,843	0,005
FC*[FN]*[FC]	14801,2	1	14801,2	3,860	0,067

A Figura 3 apresenta o gráfico de interação de médias para a AE A/O em função das variáveis FC, [FN] e [FC]. Verifica-se que a maior AE A/O foi obtida utilizando-se 3% de qualquer das fontes de nitrogênio e 1% de óleo de soja.

As partir das interações e das figuras das AE O/A e A/O definiu-se como a melhor fonte de carbono o óleo de soja e como melhor fonte de nitrogênio a uréia. Estudos realizados por Vance-Harrop et al. (2003) que utilizaram como fonte de nitrogênio a uréia (0,1%) combinado com sulfato de amônio (0,1%) na produção de biossurfactantes por *C. lipolytica* também detectaram alta atividade de emulsificação com esta fonte de nitrogênio.

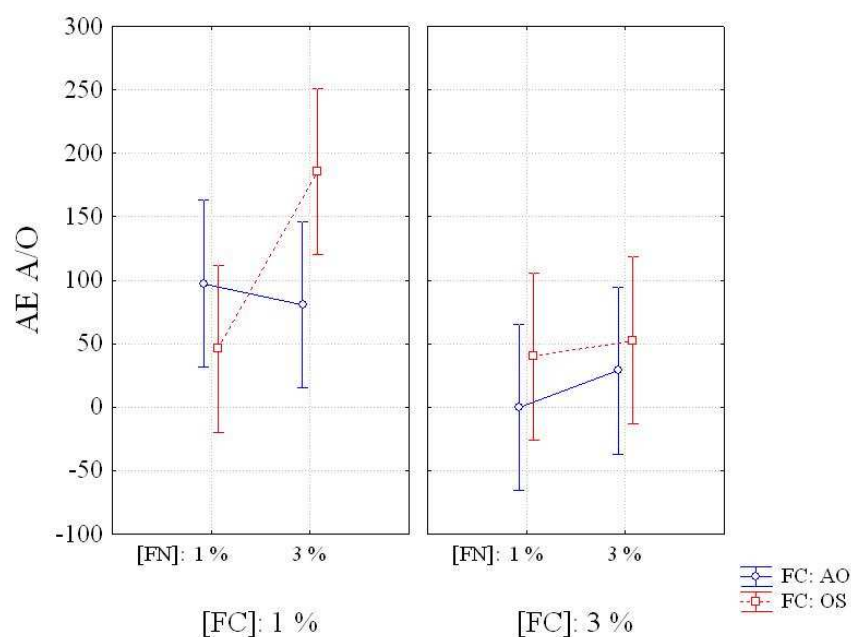


Figura 3: AE A/O em função das variáveis [FC], [FN] e FC

2.2.2. Estudo das concentrações de óleo de soja e uréia a partir de um Planejamento Fatorial Completo 3^2

As AE O/A e A/O obtidas a partir dos experimentos do Planejamento Fatorial Completo 3^2 estão apresentados na Tabela 6, verificando-se que os melhores resultados foram obtidos nos experimentos 6 (5% de uréia e 3% de óleo de soja) e 9 (5% de uréia e 5% de OS), para a AE O/A e AE A/O, respectivamente. As maiores AE O/A e A/O foram obtidas com altas concentrações de uréia e óleo de soja.

A Tabela 7 apresenta a Anova dos resultados de AE A/O obtidos em função das variáveis do PFC 3^2 , verificando-se que a interação entre as variáveis concentração de uréia e concentração de óleo de soja foi significativa sobre a AE A/O. A Figura 4 apresenta o gráfico de interação da AE O/A em função das concentrações de uréia e óleo de soja utilizadas no PFC 3^2 , verificando-se que a maior AE O/A foi obtida utilizando-se 3% de óleo de soja e 5% de uréia.

Tabela 6: AE O/A e A/O obtidas nas condições experimentais do PFC 3²

Exp.	[Uréia] (%)	[OS] (%)	AE (UE)*	O/A AE (UE)*	A/O
1	1(-1)	1(-1)	2,96±0,56	3,80±0,05	
2	3(0)	1(-1)	4,63±1,48	71,46±2,93	
3	5(+1)	1(-1)	3,44±1,52	7,69±0,08	
4	1(-1)	3(0)	2,37±0,21	3,72±2,65	
5	3(0)	3(0)	3,00±0,78	5,89±0,12	
6	5(+1)	3(0)	6,52±0,33	91,80±2,44	
7	1(-1)	5(+1)	2,92±0,48	Sem atividade	
8	3(0)	5(+1)	4,80±1,20	25,79±14,64	
9	5(+1)	5(+1)	4,30±0,74	112,71±4,41	

[uréia]= concentração de uréia; [OS]= concentração de óleo de soja;

*Resultados em média±desvio padrão

Tabela 7: Anova dos resultados de AE O/A em função das variáveis do PFC 3²

	SQ	GL	QM	F	p
Média	271,018	1	271,018	313,434	0,000
[UREIA]	12,657	2	6,328	7,319	0,013
[OS]	0,384	2	0,192	0,222	0,805
[UREIA]*[OS]	14,124	4	3,531	4,083	0,037
Erro	7,782	9	0,864		

A Tabela 8 apresenta a Anova dos resultados de AE A/O em função das variáveis do PFC 3², verificando-se que os efeitos principais e de interação das variáveis concentração de uréia e concentração de óleo de soja foram significativos ($p < 0,001$) sobre a atividade emulsificante.

Tabela 8: Anova dos resultados de AE A/O em função das variáveis do PFC 3²

	SQ	GL	QM	F	p
Média	23164,99	1	23164,99	816,642	0,000
[UREIA]	13984,87	2	6992,43	246,506	0,000
[OS]	1067,41	2	533,71	18,815	0,000
[UREIA]*[OS]	15831,22	4	3957,81	139,525	0,000
Erro	255,30	9	28,37		

A Figura 5 apresenta o gráfico de interação das variáveis concentração de uréia e concentração de óleo de soja sobre a AE A/O, verificando-se que as maiores atividades emulsificantes A/O foram obtidas utilizando-se 5% de uréia e 3% ou 5% de óleo de soja.

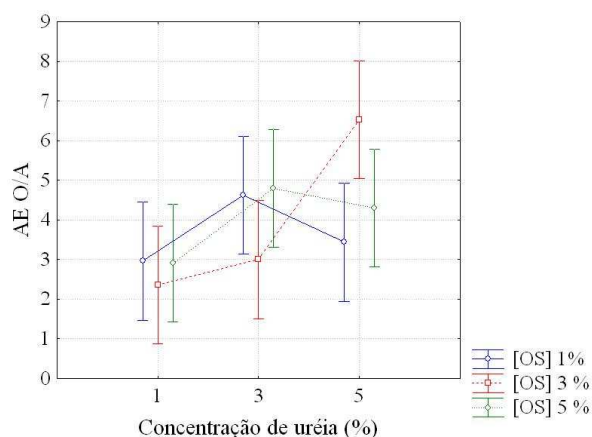


Figura 4: AEO/A em função das concentrações de uréia e óleo de soja utilizadas no PFC 3²

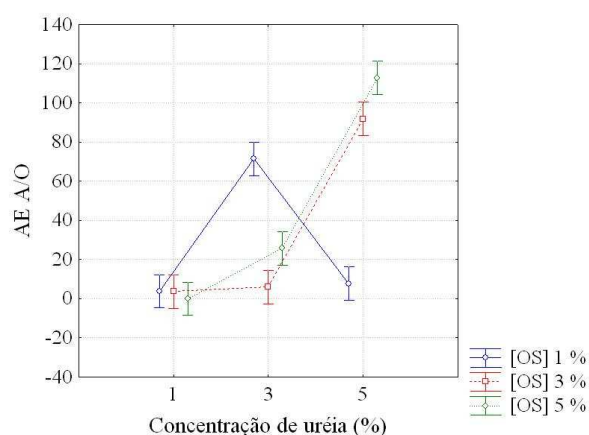


Figura 5: AE A/O em função das concentrações de uréia e óleo de soja utilizadas no PFC 3²

Os resultados das AE A/O e O/A no PFC 3² indicaram que as maiores atividades emulsificantes foram obtidas nos níveis superiores de concentração de uréia e óleo de soja. As amostragens foram realizadas em 8 d das fermentações, o que pode justificar as elevadas concentrações de uréia e óleo de soja requeridas, uma vez que o fungo *Aspergillus* necessita de altas quantidades de fontes de carbono e de nitrogênio para sua manutenção e crescimento.

As maiores atividades emulsificantes obtidas podem indicar que a produção destes compostos seja associada ao crescimento celular.

As fontes de nitrogênio e carbono utilizadas no PFC 3² são de baixo custo, contribuindo para a diminuição dos custos totais de produção dos bioemulsificantes.

3 CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos podem-se enunciar algumas conclusões: na etapa inicial da produção de biossurfactante pelo fungo *Aspergillus* O-8 via FES através do PFC 2⁴, as maiores AE O/A foram verificadas nos experimentos 7 (3 % de uréia e 1 % de OS) e 15 (3% de uréia e 3% de OS) e as maiores AE A/O foram encontradas nos experimentos 7 (3 % de uréia e 1 % OS) e 8 (3 % NS e 1 % OS). Ainda neste planejamento, as interações realizadas através do teste de comparação de médias corroboram com os resultados de média e desvio padrão, sendo que altas AE O/A e A/O foram encontradas ao utilizar uréia como fonte de nitrogênio em 1 e 3 % de óleo de soja como fonte de carbono, assim, para o planejamento posterior escolheu-se a uréia para a fonte de nitrogênio e o óleo de soja como a fonte de carbono. No PFC 32, os melhores resultados foram obtidos nos experimentos 6 (5% de uréia e 3% de óleo de soja) e 9 (5% de uréia e 5% de OS), para a AE O/A e AE A/O, respectivamente. Neste planejamento, as interações mostraram que os resultados das AE A/O e O/A foram obtidos em altas concentrações de uréia e óleo de soja, ressalta-se que os extratos para a determinação da AE foram retirados em 8 d das fermentações, um período relativamente longo em que o fungo *Aspergillus* sp. necessita de altas quantidades de fontes de carbono e de nitrogênio para se desenvolver.

O estudo demonstrou que as fontes de baixo custo podem ser utilizadas para a produção de biossurfactantes, já que estes poderão ser utilizados em larga escala por diversas indústrias, principalmente na indústria de alimentos.

REFERÊNCIAS

CARA, D. V. C. Produção de biossurfactante por *Flavobacterium* sp. a partir de óleo de soja residual e fertilizante comercial. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos

Químicos e Bioquímicos), Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009.

FONTES, G. C.; AMARAL, P. F. F.; COELHO, M. A. Z. Produção de biossurfactantes por levedura. *Química Nova*, v. 31, n. 8, p. 2091-2099, 2008.

KOCH, A. K.; KAPPELI, O.; FIECHTER, A.; REISER, J. Hydrocarbon assimilation and biosurfactant production in *Pseudomonas aeruginosa* mutants. *Journal of Bacteriology*, v. 173, n. 13, p. 4212-4219, 1991.

Martins, V.G.; Kalil, S.J.; Bertolin, T.E.; Costa, J.A.V. Solid state biosurfactant production in a fixed-bed column bioreactor. *Zeitschrift für Naturforschung*, v. 61c, p. 721-726, 2006.

PANDEY, A. Solid-state fermentation. *Biochemical Engineering Journal*, v. 13, p. 81-84, 2003.

PINTO, M. H.; MARTINS, R. G.; COSTA, J. A. V. Avaliação cinética da produção de biossurfactantes bacterianos. *Química Nova*, v. 32, n. 8, 2009.

SCHMIDELL, W. et al. *Biotechnologia industrial*. Editora Edgar Blücher, v. 1, p. 235-250, 2002.

VANCE-HARROP, M. H.; GUSMÃO, N. B.; CAMPOS-TAKAKI, G. M. New Bioemulsifiers Produced by *Candida lipolytica* Using D-Glucose and Babassu Oil as Carbon Sources. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 34, p. 120-123, 2003.