

# OTIMIZAÇÃO DE UM MEIO DE CULTURA CONTENDO RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS PARA PRODUÇÃO DE BIOSURFACTANTE POR *Bacillus subtilis* LB5a

Silva, E. C., Simiqueli, A.P.R., Pastore, G. M.

DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS, FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS – Campinas, SP, Brasil. E-mail: eloanecanali@gmail.com

Órgão Financiador: PIBIC/CNPq

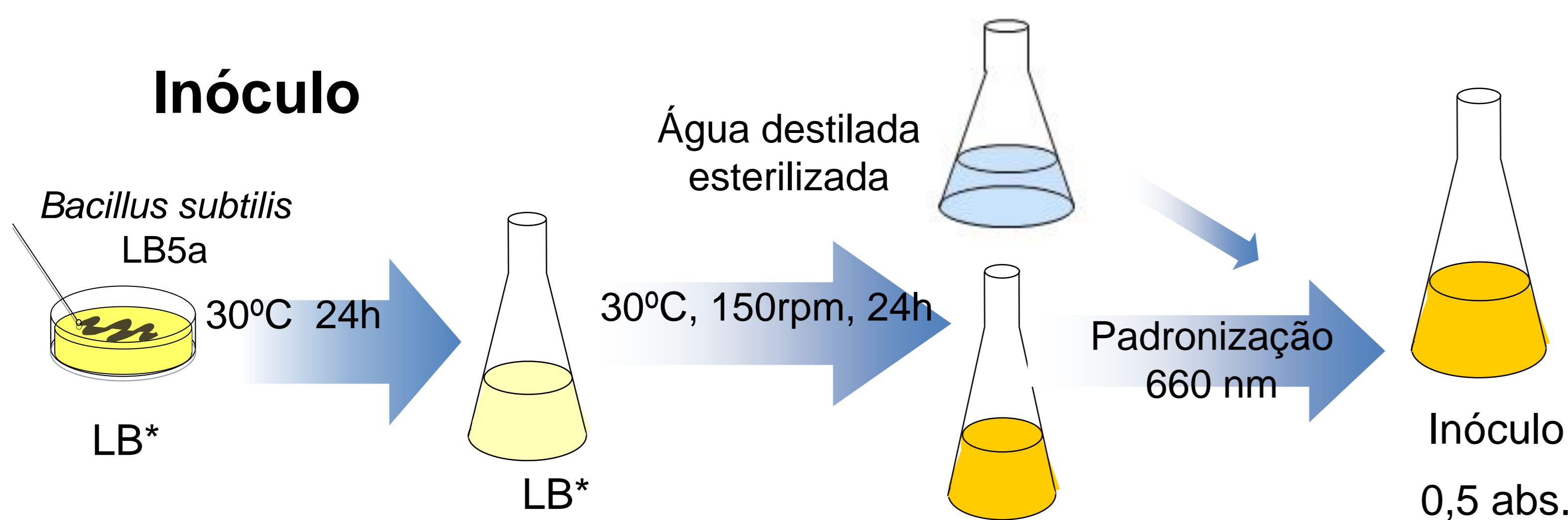
Palavras-chave: Resíduos agroindustriais; tensoativo; otimização.



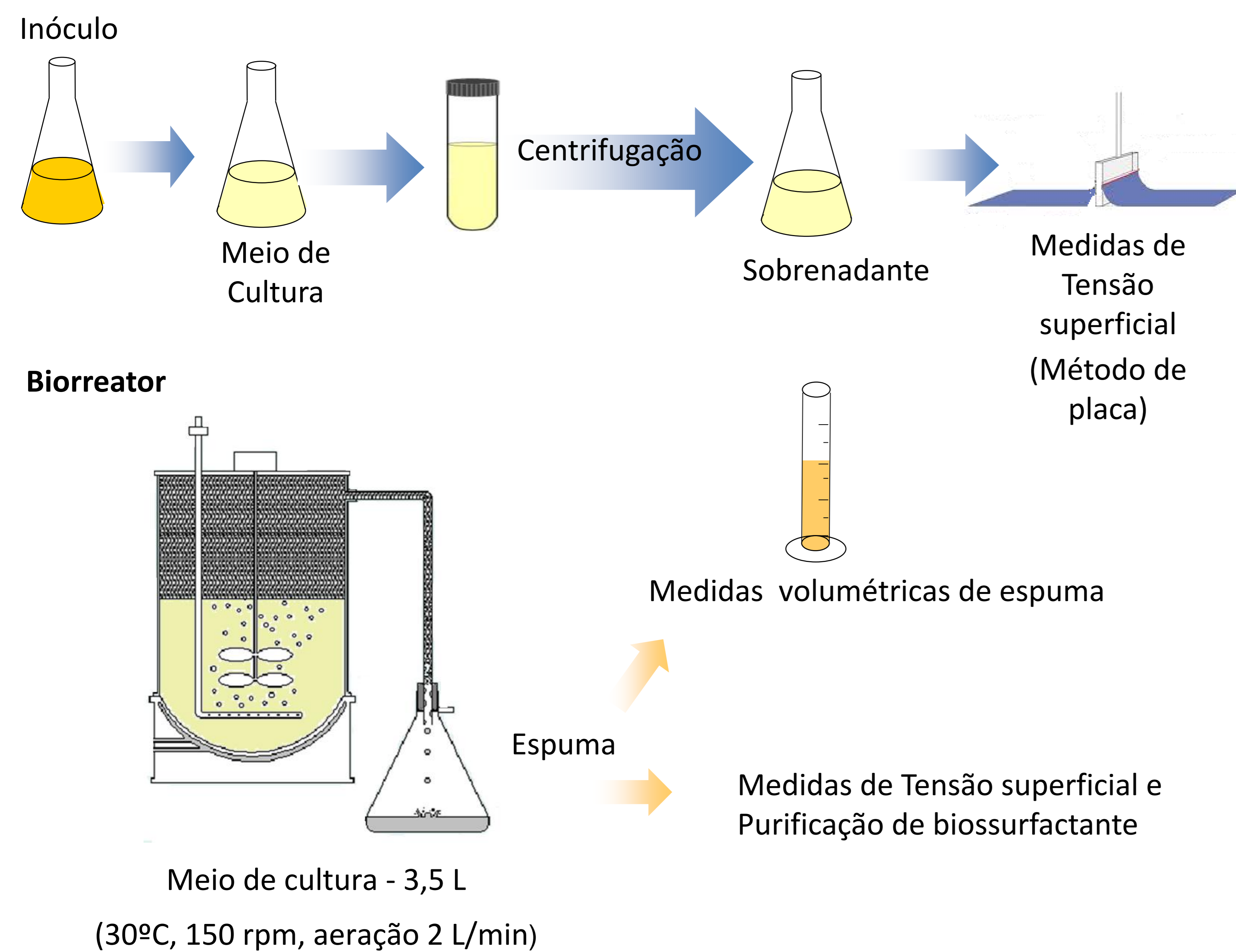
## INTRODUÇÃO

Biossurfactantes (BS) são moléculas anfífilas, podendo ser sintetizados por microorganismos, e possuem, geralmente, vantagens se comparado aos surfactantes sintéticos como baixa toxicidade e biodegradabilidade. No entanto, devido ao seu custo de produção, seu preço ainda é considerado inviável em larga escala. O presente trabalho descreve a produção de BS sintetizados pela bactéria *Bacillus subtilis* LB5a, pois esta produz um dos BS mais estudados, a surfactina, que além da alta atividade tensoativa, apresenta propriedade antibiótica. Os substratos escolhidos para o desenvolvimento bacteriano foram resíduos agroindustriais como possíveis alternativas de redução dos custos de produção, já que essa etapa representa 30% dos custos: manipueira (processamento da mandioca); água de lavagem de batata; água de maceração de milho (moagem úmida de milho); glicerol (biodiesel); malte de cevada (indústria cervejeira) e melão de cana (indústria de açúcar). Além disso, a utilização desses rejeitos está alinhada com projetos de sustentabilidade, pois reduziria a descarga desses efluentes no meio ambiente.

## METODOLOGIA



## Fermentação e Análise de Tensão superficial



## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A produção de BS foi avaliada pela diferença entre as medidas da tensão superficial (TS), diluições 1/10 (CMD-1) e 1/100 (CMD-2) do meio de cultura (branco) e das amostras coletadas em 72 horas.

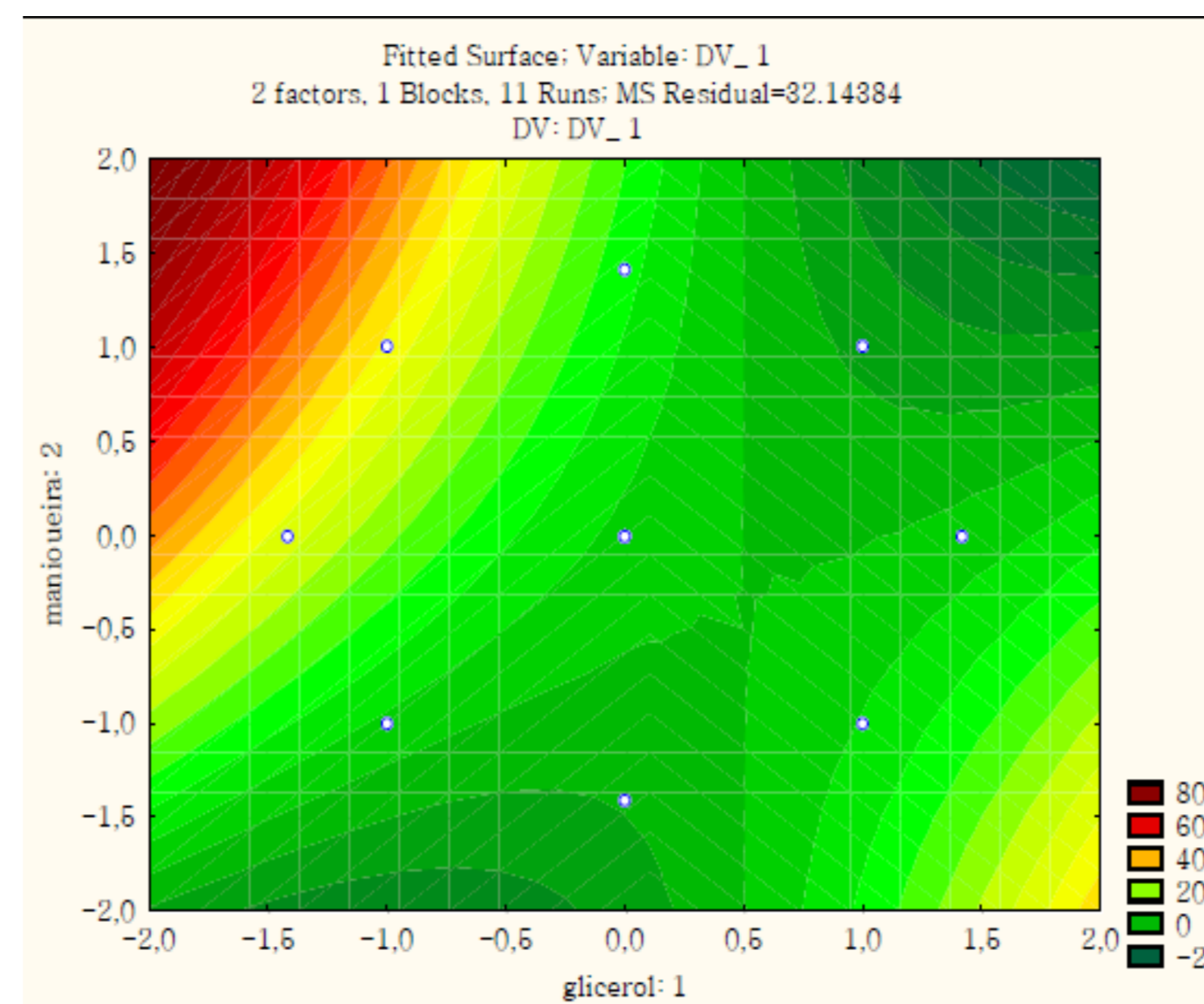


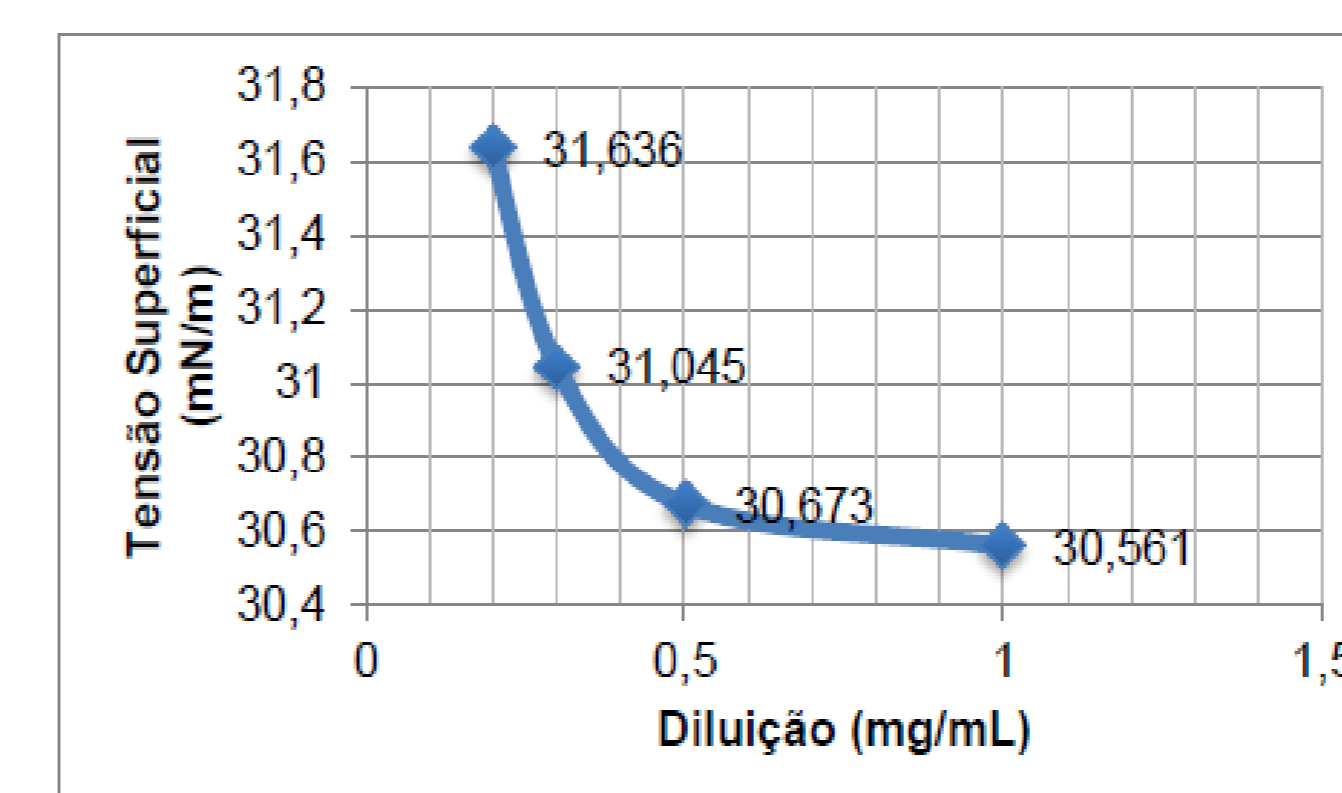
Figura 2. Resultado do DCCR.

Foi feito um DCCR de três níveis (-1, 0, +1), dois com pontos axiais (-1,41; +1,41), no qual foi possível verificar que a melhor concentração para a fermentação dos resíduos manipueira e glicerol era de 70,5% e 5,82%, respectivamente.

As fermentações duraram cerca de 72h horas. Em intervalos regulares de 12h após o início de cada fermentação foram recolhidas amostras do meio para realização de análises tensão superficial (TS) e diluição micelar crítica 1/10 (CMD-1) e 1/100 (CMD-2), pH e absorvância do meio. Vale ressaltar que a concentração de glicerol foi diminuída devida à falha na fermentação.

Houve queda de tensão superficial em relação ao tempo 0h visualizada com mais eficiência pela curva de CMD-2, em que houve uma queda acentuada no tempo de 60h e variação positiva de pH podendo ser concluído que houve produção de BS.

Na purificação, foi obtido 1600,7 mg de BS bruto e 224,3 mg de BS semipurificado por litro de caldo fermentado. A determinação dos valores para a diluição micelar crítica são importantes, pois um menor valor da CMC implica numa produção de surfactante mais eficiente.



O Gráfico 1 mostra que a partir de 0,5 mg/mL de Biossurfactante semipurificado concentrado em estufa a 50 graus Celsius, não há uma redução significativa da tensão superficial do meio, estabilizando em 30,67 mN/m, o que indica a saturação da superfície da água e, portanto, a formação de micelas. O valor de 0,5 mg/mL é alto, indicando baixa eficiência.

Gráfico 1. TS em diferentes concentrações da espuma concentrada.

Quanto à estabilidade, houve desestabilização ou precipitação do BS entre pH 1 e 4, porém mostrou-se estável entre pH 5 e 12 (observado pela curva de TS e de CMD-1). Quando o biossurfactante semipurificado foi submetido a 100°C e 121°C por diferentes períodos de tempo e tiveram sua tensão superficial medidas, foi possível observar que não houve mudança significativa na atividade superficial em ambos os casos. Em relação à força iônica, a concentração entre 10 e 15% foi responsável por melhorar a ação do biossurfactante, causada provavelmente devido a novas interações nas cargas da molécula. Por fim, foi possível concluir que o BS teve um bom índice de emulsificação ao longo de 120h, tempo em que foram analisados. No entanto, os resultados mostraram que os melhores índices foram entre óleos vegetais do que entre os óleos minerais.

## CONCLUSÃO

Entre os seis resíduos estudados apenas o glicerol e a manipueira são significativos no intuito de fazer a bactéria crescer e produzir biossurfactante, sendo que a melhor combinação de meio foi 1% de glicerol e 70,5% de manipueira. Com a realização de fermentação em biorreator, foi produzido BS, mas a presença de metanol no glicerol resíduo, além de sua alta viscosidade, fez com que a bactéria demorasse mais tempo para se adaptar ao meio. O BS produzido mostrou-se com pouca eficiência pois tem a necessidade de altas concentrações para diminuir a tensão superficial de maneira significativa (0,5 mg/L).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARROS, F.F.C. Estudo das variáveis de processo e ampliação de escala na produção de biossurfactante por *Bacillus subtilis* em manipueira. 117f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.
- COSTA, G.N. Produção biotecnológica de surfactante de *Bacillus subtilis* em resíduo agroindustrial, caracterização e aplicações. Dissertação (Mestrado) de Ciência de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, pg 101, 2005.
- MAKKAR, R.S.; CAMEOTRA, S.S. Structural characterization of a biosurfactant produced by *Bacillus subtilis* at 45°C. J Surfactants and Deterg. 2: 367-372, 1999.

Fonte: Adaptado de MAKKAR & CAMEOTRA, 1999 ;BARROS, 2007 e COSTA 2005.