

SURFACTINA: PROPRIEDADES QUÍMICAS, TECNOLÓGICAS E FUNCIONAIS PARA APLICAÇÕES EM ALIMENTOS

Francisco Fábio Cavalcante Barros*, Cedenir Pereira de Quadros, Mário Roberto Maróstica Júnior e Gláucia Maria Pastore
Departamento de Ciência de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas CP 6121, 13083-862 Campinas - SP, Brasil

Recebido em 11/11/05; aceito em 31/5/06; publicado na web em 19/1/07

SURFACTIN: CHEMICAL, TECHNOLOGICAL AND FUNCTIONAL PROPERTIES FOR FOOD APPLICATIONS. Surfactin, a lipopeptide produced by strains of *Bacillus subtilis*, has been proved to be a suitable biosurfactant in several applications. For many years, it has been investigated mainly for oil recovery and environmental usage. Its chemical, technological and functional characteristics turn surfactin into an attractive compound for several utilizations. In this review we emphasize some aspects of surfactin as a new food ingredient and its potential pharmaceutical and health applications.

Keywords: surfactin; food ingredients; pharmaceutical applications.

INTRODUÇÃO

Surfactante é uma palavra derivada da contração da expressão “surface active agent”, termo que significa, literalmente, agente de atividade superficial. Em outras palavras, surfactante é um composto caracterizado pela capacidade de alterar as propriedades superficiais e interfaciais de um líquido^{1,2}. O termo interface denota o limite entre duas fases imiscíveis, enquanto o termo superfície indica que uma das fases é gasosa¹. Outra propriedade fundamental dos surfactantes é a tendência de formar agregados chamados micelas que, geralmente, se formam a baixas concentrações em água. A concentração mínima na qual se inicia a formação de micelas chama-se concentração micelar crítica (CMC), sendo uma importante característica de um surfactante¹. Estas propriedades tornam os surfactantes adequados para uma ampla gama de aplicações industriais envolvendo: detergência, emulsificação, lubrificação, capacidade espumante, capacidade molhante, solubilização e dispersão de fases³.

A produção mundial de surfactantes excede 3 milhões de t/ano sendo que sua utilização se concentra nas indústrias de petróleo, de cosméticos, de produtos de higiene e de limpeza³, sendo que este último é o setor que utiliza a maior parte dos surfactantes produzidos como matéria-prima para fabricação de detergentes de uso doméstico⁴.

A grande maioria dos surfactantes disponíveis comercialmente é sintetizada a partir de derivados de petróleo. Entretanto, o aumento da preocupação ambiental entre os consumidores, combinado com novas legislações de controle do meio ambiente levou à procura por surfactantes naturais como alternativa aos produtos existentes⁴.

Compostos de origem microbiana que exibem atividade superficial são denominados biosurfactantes, consistindo em subprodutos de seus respectivos sistemas metabólicos⁵. Nas últimas décadas, diversos microrganismos têm sido relatados como produtores de vários tipos de surfactantes. A biodegradabilidade^{6,7} e baixa toxicidade dos biosurfactantes constituem vantagens adicionais sobre os ingredientes sintéticos e, conseqüentemente, tornam-se substitutos dos emulsificantes convencionais em alimentos e cosméticos⁶, originando maior apelo de mercado pelo fato desses produtos serem considerados naturais, além de apropriados para aplicação ambiental⁷.

As bactérias, juntamente com as arqueobactérias, são as maiores responsáveis pela produção destes compostos. Estes microrganismos têm sido isolados do solo, da água marinha, de sedimentos do mar e áreas contaminadas por óleos. Diversas evidências indicam que os biosurfactantes são produzidos, em alguns casos, em grande quantidade nestes ambientes. Uma delas é a presença de espuma e emulsões em áreas de derramamento de óleos em oceanos, bem como seu efeito positivo no aumento da recuperação terciária de óleo⁸.

Os primeiros relatos envolvendo a utilização de biosurfactantes datam de 1949, quando Jarvis e Johnson⁹ detectaram as atividades antibiótica e hemolítica de um ramnolipídeo, e de 1968, quando Arima e colaboradores¹⁰ descobriram a existência de um novo composto biologicamente ativo produzido por *Bacillus subtilis*⁹, o qual foi denominado surfactina devido à sua grande atividade superficial, tendo, posteriormente, sua estrutura elucidada¹¹. Mais tarde, foi registrada a produção de biosurfactante em meios hidrofóbicos, o que levou a estudos de sua aplicação em tratamento de resíduos de petróleo¹², recuperação de petróleo^{13,14}, biorremediação e dispersão no derramamento de óleos¹⁴.

Os biosurfactantes, de modo geral, podem ser classificados em: glicolipídeos, lipossacarídeos, lipopeptídeos, fosfolipídeos e ácidos graxos/lipídeos neutros (como os ácidos ustilágico e corinomicólico)¹⁵, além de surfactantes poliméricos e surfactantes particulados¹⁶, sendo os lipopeptídeos os biosurfactantes mais efetivos¹⁵. Os surfactantes lipoprotéicos são talvez os mais conhecidos por suas atividades antibióticas, sendo melhor caracterizados aqueles produzidos por *Bacillus* sp, incluindo surfactina, iturina, fengicina, liquenisina⁸, micosubtilisina e bacilomicina¹⁷. Esse tipo de composto se caracteriza pela existência de peptídeos ligados a ácidos graxos, sendo que a porção protéica da molécula pode ser neutra ou aniônica e os aminoácidos estão freqüentemente dispostos em uma estrutura cíclica⁸.

Apesar da elucidação de diversas propriedades da surfactina na década de 60, somente nos anos 80 chamou a atenção de diversos pesquisadores como uma alternativa atraente para substituir os surfactantes sintéticos, os quais podem ser mais danosos ao ambiente⁸. Surfactantes produzidos por diferentes linhagens de *Bacillus subtilis*, além de serem obtidos por processos menos agressivos sob o ponto de vista ambiental, apresentaram efeitos significativos na biodegradação de hidrocarbonetos alifáticos e aromáticos¹⁸⁻²⁰,

*e-mail: fabiocb@fea.unicamp.br

remoção de óleo de areia contaminada^{19,21}, formação de emulsões estáveis em óleo²¹, bem como na degradação do pesticida endossulfan²² e biorremediação de solos altamente contaminados por zinco e cádmio²³.

A indústria petrolífera era o grande mercado para biossurfactantes até a década de 90, porém a diversidade química destas moléculas fornece uma ampla variedade de compostos com propriedades específicas, que permitem aplicações comerciais em diversos setores industriais¹⁴.

Esta revisão tem o propósito de levantar dados sobre produção, aplicação e atualidades relacionadas à surfactina, o principal surfactante produzido por linhagens de *Bacillus subtilis* sendo que, apesar de ser um biossurfactante muito efetivo, poucos estudos foram realizados a respeito de suas aplicações. Além disso, suas características químicas e propriedades funcionais permitem evidenciar o grande potencial dessa substância para aplicação em diversos segmentos industriais.

PROPRIEDADES QUÍMICAS

A surfactina é conhecida por ter excepcional atividade superficial, reduzindo a tensão superficial da água (20 °C) de 72 para 27 mN/m^{10,24-27} em concentrações menores de 20 µM²⁶, além de reduzir a tensão interfacial do sistema água/hexadecano de 43 para valores menores que 1 mN/m^{25,27}. Quando é comparada a outros biossurfactantes^{27,28} e a alguns surfactantes sintéticos, como dodecilsulfato de sódio (SDS) e brometo de trimetil amônio (BTA)²⁹, possui maior capacidade de reduzir a tensão superficial e interfacial e apresenta menores valores de concentração micelar crítica (CMC)²⁷⁻²⁹.

A surfactina é produzida por várias cepas de *Bacillus subtilis*^{10,21,30,31} e sua estrutura geral, demonstrada na Figura 1, é a de um peptídeo cíclico de sete aminoácidos ligados a uma cadeia de ácido graxo β-hidróxi, sendo que esta cadeia pode variar de 13 a 15 átomos de carbono, permitindo a existência de diferentes compostos homólogos e isômeros^{25,31,32}. O principal ácido graxo conjugado é o ácido 3-hidroxi-13-metil-tetradecanóico^{31,32} ligado por ligação lactona, tal como os demais²⁶.

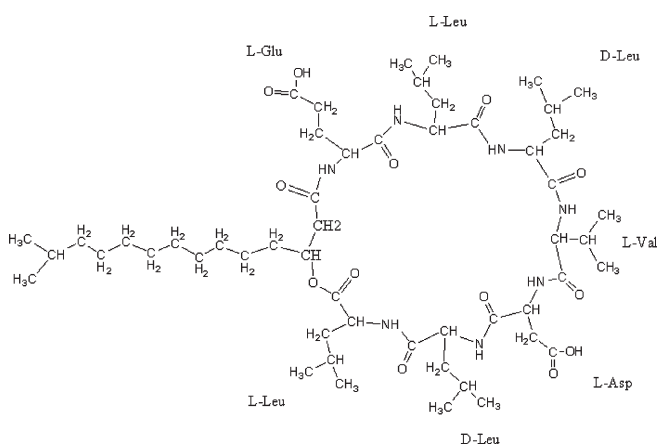


Figura 1. Estrutura da principal isoforma da surfactina

A surfactina natural é uma mistura de isoformas que se diferenciam ligeiramente em suas propriedades físico-químicas devido a variações no tamanho da cadeia, à ligação do seu componente hidroxi ácido graxo e a substituições dos aminoácidos componentes do anel³¹. Estas variações dependem da linhagem^{31,33} e das condições nutricionais e ambientais^{31,34}, mais do que de determinação genética.

A atividade biológica da surfactina depende tanto da composição de aminoácidos e da seqüência do peptídeo como da natureza da sua parte lipídica³¹. As substituições de aminoácidos são responsáveis pelas mudanças significativas em suas propriedades causadas pela modificação da distribuição polar/apolar e/ou da acessibilidade de grupos carboxílicos a cátions. Estas modificações acarretam em diferenças na capacidade hemolítica, quelação de metais, CMC e atividade superficial^{25,26}.

Vários experimentos têm demonstrado que a surfactina é bastante estável quando submetida a diversas condições. Os biossurfactantes produzidos por *Bacillus* sp são estáveis em concentrações de NaCl de 2 a 3%, as quais são suficientes para inativar surfactantes convencionais³⁵. O biossurfactante produzido pela cepa de *Bacillus subtilis* C9 apresentou amplo limite de estabilidade e manutenção de propriedades emulsificantes a limites variados de temperaturas (20-100 °C por 1 h), pH (5,0 a 9,5) e concentrações salinas de 1.000 mM de NaCl e 10 mM de CaCl₂²⁹.

Utilizando-se outra linhagem, foi produzido surfactante com estabilidade a variações de temperatura (100 °C por 2 h, 121 °C por 0,5 h e 135 °C por 1 h), de pH 6 a 12, em concentração salina (15% NaCl) e em presença de enzimas proteolíticas (bromelina, ficina, papaína e tripsina) além de boas propriedades emulsificantes de óleos vegetais e hidrocarbonetos²¹.

A acidificação da solução para pH igual a 2 eleva a tensão superficial para 62 mN/m, voltando para 27 mN/m com a neutralização, pH 6, mostrando a dependência das propriedades surfactantes da surfactina em relação ao pH²⁷. Isto se deve ao fato de que em meio ácido a surfactina precipita sem, contudo, ter sua estrutura alterada^{21,27}. Esta característica constitui em uma vantagem adicional pois, mesmo submetida a condições mais extremas de pH, há manutenção da estrutura química original.

PROPRIEDADES FUNCIONAIS E TOXICOLÓGICAS

Um número crescente de investigações relativas às propriedades funcionais dos biossurfactantes colocam-nos como produtos de origem biotecnológica de real importância quanto às variadas aplicações. São propostas três funções principais para esses compostos: aumentar a área superficial de substratos hidrofóbicos insolúveis em água, aumentar a biodisponibilidade de substratos hidrofóbicos pelo aumento de sua solubilidade aparente e influenciar a adesão de microrganismos a superfícies. Essas funções têm forte influência na sobrevivência dos microrganismos produtores desses surfactantes no seu habitat natural (solo e rizosfera)⁵.

Assim como os demais biossurfactantes, os lipopeptídeos são capazes de alterar as propriedades físicas e/ou químicas de interfaces. Estes compostos podem atuar como antibióticos, agentes antivirais e antitumorais, imunomoduladores ou inibidores de enzimas e toxinas. O modo de ação de muitos desses compostos não foi esclarecido em detalhe até o momento, apesar de se saber que suas atividades de superfícies e de membrana desempenham um papel importante em diversos sistemas. Muitos surfactantes lipopeptídicos possuem potentes atividades antibióticas e foram submetidos a diversos estudos na descoberta de novos antibióticos⁵. Dentre os lipopeptídeos, a surfactina é o representante mais investigado³⁶, pois apresenta baixa CMC, alto poder de redução da tensão superficial^{10,21,27,29,37}, além de apresentar diversas funções biológicas, como demonstrado na Tabela 1.

Essas funções caracterizam a surfactina como molécula biologicamente ativa. Apesar dos mecanismos de ação da surfactina não estarem plenamente elucidados, presume-se que essas características sejam uma conseqüência direta da interação membranal da surfactina e a alteração das propriedades de bicamada. Mais especi-

Tabela 1. Algumas das principais funções biológicas da surfactina

Função da surfactina	Ref.
Bactericida	8, 21, 36, 37, 38, 39
Fungicida	21, 36, 40
Antiviral	21, 37, 41
Agente antitumoral	21, 42
Inibidor da formação de coágulos fibrinosos	41, 43
Antimicoplasmático	40, 44
Veículo para administração de drogas via pulmonar	45, 46

ficamente, parece claro que essas propriedades da surfactina estão principalmente relacionadas à sua capacidade de alterar a integridade membranal, como consequência do estabelecimento de fortes interações com os constituintes fosfolipídicos da membrana celular⁴⁵. Estudos sobre os mecanismos moleculares de permeabilização de membrana através da incorporação da surfactina demonstraram haver perda do conteúdo vesicular através da desestabilização lipídica ou formação de poros intra membranais^{38,47}. Recentemente, foi demonstrado que certos tipos de peptídeos cíclicos são capazes de inativar bactérias gram-positivas e gram-negativas, através da autoformação de sistemas tubulares em membranas lipídicas³⁸.

As propriedades da surfactina também são base para a explicação de sua ação anticarcinogênica. Foi proposto que a surfactina tem a capacidade de, ao atingir o interior da célula, promover ruptura da membrana plasmática²⁸. Mostrou atividade antitumoral contra células com carcinoma de Ehrlich³⁹; atividade antiproliferativa em experimentos com células dos cânceres de ovário, renal, de próstata, de cólon, de pulmão, de mama, de mama residente e melanoma; atividade citostática e citotóxica a todos os carcinomas investigados²¹.

A surfactina também é capaz de inibir a formação de biofilmes de outras bactérias, até mesmo da patogênica *Salmonella enterica*. As ações antimicrobianas e antifúngicas de lipopeptídeos foram vantajosas para células de *B. subtilis* ao eliminar competidores do mesmo habitat³⁶.

Apesar dos biossurfactantes lipopeptídicos agirem na membrana celular de microrganismos de modo semelhante aos surfactantes sintéticos⁵, a atividade biológica da surfactina de uma linhagem de *B. subtilis* cultivada em manípueira mostrou-se mais elevada que a surfactina comercial, em ensaios com diversas linhagens de microrganismos (entre os quais *Staphylococcus aureus* e *Salmonella choleraesuis*)³⁹. Além disso, há fortes evidências de que as propriedades de barreiras da membrana podem ser danificadas em áreas onde os oligômeros da surfactina interagem com fosfolipídeos. Isso causa flutuações estruturais que podem ser o princípio de ação dos antibióticos e de outros efeitos biológicos importantes desse lipopeptídeo. Estes tipos de peptídeos atuam rapidamente sobre a integridade membranal, assim como em outros processos vitais e podem, talvez, constituir a próxima geração de antibióticos³⁷.

O potencial dos surfactantes peptídicos pode ser evidenciado através da demonstração de propriedades das proteínas surfactantes humanas A e D, ao proteger ratos contra hipersensibilidade pulmonar induzida por *A. fumigatus* e produtos alergênicos. As proteínas surfactantes podem interagir com os antígenos glicosilados e alergênicos de *A. fumigatus*, inibindo a ligação específica da IgE com o alergênico e serem capazes de bloquear a liberação de histamina sintetizada de basófilos⁴².

Outra aplicação proposta é a da facilitação da absorção de fármacos utilizando o pulmão como sítio de entrada. Esse órgão possui muitas características favoráveis para administração de drogas pois apresen-

ta baixa atividade enzimática intrínseca, grande área de absorção (100 m²), é bem irrigado pelos vasos sanguíneos, possui fina camada alveolar do epitélio (0,1-0,2 µm) e curta distância para passagem sangue⁴⁵. Os efeitos da surfactina na absorção de insulina em pulmão de ratos foram examinados. A biodisponibilidade do peptídeo administrado pela rota intratraqueal como solução contendo 1 ou 10 mM de surfactina foi 15,1 e 80,0%, respectivamente. Dados relativos à toxicidade não são apresentados no relato⁴⁶.

A atividade antiviral da surfactina foi determinada para uma larga gama de vírus. Experimentos *in vitro* mostraram que a surfactina inativou eficazmente o vírus causador de herpes, assim como o retrovírus e outros vírus de RNA e DNA compactados. Surpreendentemente, não foi inativado o vírus Semliki Forest, um vírus envelopado utilizado como modelo para vírus da hepatite C. Concentrações maiores que 80 mM levaram a uma redução nas concentrações dos vírus⁴¹.

A ruptura total das membranas lipídicas virais e parcial dos capsídeos sugere que a ação antiviral seja devida à interação físico-química do surfactante com a membrana viral lipídica. A surfactina pode ser útil em aplicações relacionadas ao aumento da segurança de produtos biotecnológicos e farmacêuticos, tais como derivados de sangue e produtos obtidos de culturas de células, os quais possuem risco de transmitir doenças, como o vírus da hepatite B, HIV ou Herpes simplex. Entretanto, o potencial da surfactina parece ser dependente do ambiente, pois a atividade da surfactina contra vírus decresce com um incremento da relação proteína/lipídeo no meio de reação. Dessa forma, não deve ser útil para melhora da segurança contra vírus em produtos com alta concentração proteica⁴¹.

Estudos de toxicidade *in vivo* em ratos demonstraram que a LC₅₀ da surfactina é 200 mg/kg em aplicações intramusculares e maior que 4 g/kg em aplicações orais³⁰. Devido a essa baixa toxicidade *in vivo*, talvez não seja necessário que a surfactina seja completamente removida de produtos. Por outro lado, a surfactina possui efeito hemolítico e inibe a formação de coágulo fibrinoso, portanto, deve ser removida quando utilizada durante o processo produtivo de certos produtos⁴¹.

Entretanto, sabe-se que os biossurfactantes, em geral, possuem baixa toxicidade, podendo ser aplicados em alimentos, cosméticos e produtos farmacêuticos. *Bacillus amyloliquefaciens* e outros membros do grupo do *Bacillus subtilis* são considerados como seguros. Alguns produtos celulares de linhagens de *Bacillus* possuem o status 'GRAS' ("Generally Recognized as Safe"). Alguns casos podem ser citados, como a preparação enzimática de pectato-liase de *Bacillus subtilis* (GRAS n° 114), α -amilase derivada de *Bacillus licheniformis* (GRAS n° 79) e pululanase de *Bacillus licheniformis* (GRAS n° 72)⁴⁸. Apesar disso, *B. subtilis* e *B. licheniformis* parecem estar implicados em alguns casos de envenenamentos fatais por alimentos⁴⁹.

Demonstrou-se que o tratamento com surfactina melhorou as taxas de proliferação e mudanças morfológicas de células mamárias que foram contaminadas com micoplasma⁴⁴, sem efeitos deletérios significantes no metabolismo celular e na proliferação de células em cultura⁵⁰.

Relatou-se que a surfactina C, nas concentrações de 3 a 20 µM, aumenta a ativação de pró-uroquinase na presença de plasminogênio (as ativações do plasminogênio e da pró-uroquinase são mecanismos importantes nas etapas de iniciação e propagação da atividade fibrinolítica local)⁴⁶. Isso sugere uma possível aplicação para surfactina em terapia trombolítica. Além disso, a surfactina tem vantagens sobre outros agentes trombolíticos disponíveis, pois os mesmos apresentam efeitos colaterais e, possuem potencial apenas para uso a curto prazo⁵⁰.

BIOSURFACTANTES NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS: ASPECTOS TECNOLÓGICOS

Biossurfactantes são de grande interesse por suas propriedades físico-químicas e biológicas que podem ser exploradas nas indústrias farmacêutica, de óleos minerais²⁴ e de alimentos⁵¹. A propriedade de formação e estabilização de emulsões é a principal característica a ser influenciada pela adição de biossurfactantes em alimentos^{4,6,21,38,39,52}. De forma geral, a função dos emulsificantes em alimentos é promover a estabilidade da emulsão, controlando a aglomeração de glóbulos de gordura e estabilizando sistemas aerados^{53,54}.

Por definição, uma emulsão é um sistema heterogêneo, consistindo de ao menos um líquido imiscível (fase interna descontínua) disperso em outro (fase externa contínua) em forma de pequenas gotas, com o diâmetro que, em geral, excede 0,1µm⁵⁴. Tais sistemas possuem uma estabilidade mínima, a qual pode ser aumentada por aditivos surfactantes, sólidos finamente divididos etc^{52,53}, que atuam reduzindo a tensão interfacial, diminuindo a energia na superfície entre as duas fases e prevenindo a coalescência das partículas através da formação de barreiras estéricas e eletrostáticas⁵³. Exemplos de emulsões naturais são o leite e a gema de ovo. Exemplos de alimentos processados, que são emulsões, são creme de leite, manteiga, margarina, maionese, molhos para salada, salsicha, lingüiça, sorvetes, bolos, chocolate, recheios⁵² e produtos instantâneos⁵⁴.

Outras aplicações para os emulsificantes são descritas, entre elas: melhorar a textura e vida de prateleira de produtos contendo amido, pela formação de complexos com os componentes destes; modificar as propriedades reológicas da farinha de trigo, pela interação com o glúten; melhorar a consistência e textura de produtos à base de gorduras, pelo controle de polimorfismo e da estrutura cristalina das gorduras^{3,54} além de promover a solubilização de aromas⁶.

Algumas vantagens da aplicação de biossurfactantes em alimentos podem ser citadas: estes compostos podem ser produzidos sob aplicação de procedimentos relativamente simples e baratos; novos tipos de surfactantes, que não são facilmente sintetizados por processo químico, podem ser obtidos; possuem um aspecto ecologicamente correto, devido à sua completa biodegradabilidade; para aplicações específicas, diferentes propriedades do mesmo composto podem ser utilizadas (como a combinação do efeito emulsificante com antibiótico)²⁸, bem como seu potencial para utilização como ingrediente com propriedades funcionais²⁹.

Apesar da aplicação potencial, a indústria de alimentos não utiliza ainda os biossurfactantes como aditivos em larga escala. Muitas propriedades dos biossurfactantes, assim como sua regulação em relação à aprovação como novo ingrediente para alimentos, têm que ser resolvidas. A elaboração de testes e avaliação de qualquer novo ingrediente é requerida de acordo com os regulamentos do "U. S. Food and Drug Administration" e este processo pode ser longo. Os fatores a serem considerados nesta avaliação estão relacionados a questões nutricionais, funcionais, sensoriais, biológicas e toxicológicas do novo ingrediente, além disso outros fatores devem ser considerados, tais como fatores econômicos, quando comparados aos surfactantes sintéticos para o mesmo uso, aceitação pelo consumidor, regulação legal e hábitos alimentares dos consumidores⁵².

Apesar das restrições citadas, a utilização de biossurfactantes em alimentos mostra-se promissora quando são consideradas algumas aplicações já descritas na literatura. No Japão, onde restrições legais relativas ao uso de novos componentes naturalmente produzidos em processos biotecnológicos na indústria de alimentos não são tão rígidas, soforolipídios foram patenteados como aditivos para farinha de trigo⁵⁵, parede celular de *Saccharomyces uvarum* hidrolizada e liofilizada aplicada em margarinas⁵⁶, bem como ramnolipídios de *Pseudomonas aeruginosa* para aplicações cosméticas e alimentícias⁵⁷⁻⁵⁹. Além disso,

outro relato apontou possíveis aplicações de biossurfactantes em alimentos: Emulsan e Paraemulsan de *Acinetobacter calcoaceticus* combinados com emulsificantes sintéticos⁶⁰.

A manoproteína produzida por *Saccharomyces cerevisiae* pode estabilizar emulsões água/óleo para produção de maionese, biscoitos, bolos, produtos cárneos (salsichas), sorvetes, entre outros. É produzida através de um processo biotecnológico simples, de larga escala e baixo custo. Além de ser estável em uma larga faixa de pH (3-11), seu subproduto pode ser utilizado para alimentação animal ou produção de meios de cultura⁶¹.

Ramnolipídeos produzidos por *Pseudomonas aeruginosa* em processos de fermentação descontínuos e semi-contínuos têm demonstrado alta produtividade, tornando este método viável para a produção de L-ramnose em escala comercial. A ramnose tem aplicação industrial como matéria-prima na produção de alguns compostos orgânicos⁵⁸.

Leveduras *Candida utilis*, *Candida valida*, *Hansenula anomala*, *Rhodospiridium diobovatum* e *Rhodotorula graminis*, a alga vermelha *Porphyridium cruentum* e as bactérias *Klebsiella* sp e *Acinetobacter calcoaceticus* foram identificadas como bons produtores de bioemulsificantes extracelulares, com melhor atividade estabilizante que a goma arábica e a carboximetilcelulose. O biossurfactante produzido por *Candida utilis*, aplicado como emulsificante em molhos para salada, mostrou-se promissor para ser investigado como novo ingrediente para indústria de alimentos⁶².

Em detrimento às propriedades da surfactina, relatos de sua aplicação na indústria de alimentos são escassos. Contudo, relata-se que um surfactante produzido por linhagem de *B. subtilis*, utilizando solução de 1,0 mg/mL de produto bruto em água, demonstrou capacidade de formar emulsões estáveis de óleos comestíveis, por ex., óleos de buriti (*Mauria flexuosa*), maracujá (*Passiflora alata*), cupuaçu (*Theobroma grandiflora*), babaçu (*Attalea speciosa*), linhaça (*Linum usitatissimum*), castanha do Pará (*Bertholetia excelsa*), palma (*Elaeis guineensis dura*), soja (*Glycine max*), girassol (*Helianthus annuus*), canola (*Brassica napus*) e oliva (*Olea europaea*)²¹.

PERSPECTIVAS PARA PRODUÇÃO DA SURFACTINA UTILIZANDO RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS

A surfactina ainda não é explorada comercialmente devido, principalmente, ao seu elevado custo de produção³⁷. Contudo, as propriedades de formar emulsões estáveis de óleos comestíveis em água²¹ e de reduzir fortemente a tensão superficial, mesmo em baixas concentrações^{10,26-28}, têm especial significado quando se leva em consideração a viabilidade econômica de formulações que contenham estas substâncias, haja visto que alguns produtos com alto valor agregado poderiam absorver os altos custos originados a partir da adição destes compostos⁵². Estes fatos sugerem o grande potencial de aplicação industrial para os biossurfactantes.

A fim de reduzir os custos de produção para ampliação das possibilidades de aplicação, o uso de resíduos industriais como meio de cultura é uma alternativa praticável, uma vez que a matéria-prima representa 30% de custos totais em um processo biotecnológico⁶³.

O processo produtivo da surfactina ainda não está bem estabelecido para aplicação direta em escala industrial, sendo os fatores econômicos os principais empecilhos. Levando-se em consideração que milhões de toneladas de resíduos danosos ao meio ambiente são gerados, a utilização dos mesmos em processos biotecnológicos parece ser uma alternativa plausível, principalmente quando se considera a utilização de uma grande variedade de resíduos agroindustriais como matéria-prima para processos biotecnológicos⁶⁴. Deste modo, a utilização de resíduos agroindustriais para

produção de biossurfactantes é um dos passos na direção da viabilização da implantação desses processos em escala industrial.

Por outro lado, no caso da produção biotecnológica de surfactantes, é necessário um correto balanço de nutrientes para promover condições adequadas de desenvolvimento e produção. Dessa forma, a utilização de resíduos com alto conteúdo de carboidratos e lipídeos parece ser uma opção adequada para produção de biossurfactantes⁶⁵.

Os efluentes do processamento de batatas caracterizam-se como potenciais substituintes de substratos convencionais sintéticos, pois são geralmente ricos em fonte de carbono na forma de amido e açúcares, nitrogênio e minerais. Foi investigada a produção de surfactina por linhagem de *Bacillus subtilis* 21332 desenvolvida em meio contendo efluentes sólidos do processamento de batata. O rendimento final de surfactina foi 66% inferior se comparado com o rendimento em meio de amido de batata otimizado⁶⁶. A utilização de hidrolisados de turfa por uma linhagem de *Bacillus subtilis* para produção de surfactina é relatada. Os autores descreveram a utilização dos compostos gerados a partir da hidrólise ácida do material. A produção do biossurfactante parece estar relacionada com a proporção entre carbono e nitrogênio do meio de cultivo. Relata-se ainda que a produção do biossurfactante foi tão eficiente quanto a produção em meio sintético. Ressalta-se que diferenças na composição do meio refletiram em diferenças nas curvas de tensão superficial⁶⁷. Substratos adicionais foram sugeridos para produção de biossurfactante, tais como melão e soro de leite⁶⁸. Além desses resíduos citados, há descrição da utilização de outros resíduos, como rejeitos do processamento de óleos⁶⁹ e resíduos do processamento de soja⁷⁰.

Outro exemplo de substrato com altos teores de fontes de carbono é a manipueira, a qual é originada da prensagem das raízes de mandioca para fabricação de farinha e de fécula. Este efluente é, geralmente, descarregado no ambiente, resultando em grande problema ambiental⁶⁸.

Alguns relatos sugerem a manipueira como substrato para produção biotecnológica, como a produção de biomassa oleaginosa por *Trichosporon* sp⁷¹ e ácido cítrico por *Aspergillus niger*⁷². No caso da produção de biossurfactante, várias linhagens de *Bacillus subtilis* foram testadas segundo suas habilidades em utilizar a manipueira para produção de surfactina^{21,37,68,73}. Quando comparada com meio sintético e com alguns resíduos, tais como melão e soro de leite, segundo a tensão superficial final do meio de cultura, a manipueira foi o substrato no qual os menores valores de tensão foram encontrados. Os valores próximos a 26 mN/m encontrados indicam que a manipueira está entre os meios de cultura mais adequados para produção de biossurfactante^{37,73}.

CONCLUSÕES

Apesar de, até o momento, existirem poucos estudos a respeito de aplicações industriais da surfactina, suas propriedades químicas, tecnológicas e funcionais indicam fortes possibilidades de uso neste setor.

Do ponto de vista químico, propriedades como detergência, emulsificação, capacidade espumante, solubilização e dispersão de fases da surfactina geram possibilidades para inúmeras aplicações em diversos produtos alimentícios, tais como produtos de panificação, aromas, laticínios etc.

Associadas a isso, algumas de suas vantagens tecnológicas como estabilidade a diversas condições de processamento, bem como na formação de emulsões estáveis, fazem da surfactina um potencial ingrediente industrial.

Adicionalmente, levando-se em conta as atuais preocupações dos consumidores com relação à alimentação e saúde, a aplicação da

surfactina em alimentos mostra-se favorável a essa tendência, uma vez que evidências demonstram possíveis atividades funcionais desse biossurfactante como agente preventivo a alguns tipos de doença. Estudos toxicológicos apontam baixa toxicidade *in vivo*.

Apesar de muitos elementos favoráveis à sua aplicação, a indústria de alimentos não faz uso de biossurfactantes devido, principalmente, aos custos envolvidos em seu processo produtivo. Recentemente, algumas possibilidades têm surgido para redução de custos de produção dos biossurfactantes em geral. A utilização de resíduos industriais como meio de cultura para microrganismos produtores de biossurfactantes parece ser uma alternativa possível.

Levando-se em conta as inúmeras características e propriedades apresentadas pela surfactina, a redução dos custos de sua produção tornaria possível a aplicação industrial desses compostos em um futuro próximo.

REFERÊNCIAS

- Jönsson, B.; Lindman, B.; Holmberg, K.; Kronberg, B. Em *Surfactants and Polymers in Aqueous Solutions*; Jönsson, B.; Lindman, B.; Holmberg, K.; Kronberg, B., eds.; Wiley: New York, 1998, cap. 1.
- Waters, J. Em *Recent Developments in the Analysis of Surfactants*; Porter, M. R., ed.; Crown House: UK, 1991, cap. 6.
- Banat, I. M.; *Biofutur* **2000**, 198, 44.
- Nitschke, M.; Pastore, G. M.; *Quim. Nova* **2002**, 25, 772.
- Cameotra, S. S.; Makkar, R. S.; *Curr. Opin. Microbiol.* **2004**, 7, 262.
- Banat, I. M.; Makkar, R. S.; Cameotra, S. S.; *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2000**, 53, 495.
- Lin, S.; *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **1996**, 66, 109.
- Maier, R. M.; *Adv. Appl. Microbiol.* **2003**, 52, 101.
- Jarvis, F. G.; Johnson, M. J.; *J. Am. Chem. Soc.* **1949**, 71, 4124.
- Arima, K.; Kakinuma, A.; Tamura, G.; *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1968**, 31, 488.
- Kakinuma, A.; Ouchida, A.; Shima, T.; Sugino, H.; Isono, M.; Tamura, G.; Arima, K.; *Agric. Biol. Chem.* **1969**, 33, 1669; Kakinuma, A.; Hori, M.; Isono, M.; Tamura, G.; Arima, K.; *Agric. Biol. Chem.* **1969**, 33, 971; Kakinuma, A.; Sugino, H.; Isono, M.; Tamura, G.; Arima, K.; *Agric. Biol. Chem.* **1969**, 33, 976.
- Itoh, S.; Honda, H.; Tomita, F.; Suzuki, T.; *J. Antibiot.* **1971**, 24, 855.
- Prince, R. C.; *Crit. Rev. Microbiol.* **1993**, 19, 217.
- van Dyke, M. I.; Lee, H.; Trevors, J. T.; *Biotechnol. Adv.* **1991**, 9, 241.
- Zajic, J. E.; Seffens, W.; *CRC Crit. Rev. Biotechnol.* **1984**, 1, 87.
- Desai, J. D.; Desai, A. J. Em *Biosurfactants: production, properties, applications*; Kosaric, N., ed.; Marcel Dekker: New York, 1993, cap. 3.
- Steller, S.; Vater, J.; *J. Chromatogr., B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* **2000**, 737, 267.
- Cubitto, M. A.; Morán, A. C.; Commendatore, M.; Schiarello, M. N.; Baldini, M. D.; Siñeriz, F.; *Biodegradation* **2004**, 15, 281.
- Morán, A. C.; Olivera, N.; Commendatore, M.; Esteves, J. L.; Siñeriz, F.; *Biodegradation* **2000**, 11, 65.
- Olivera, N. L.; Commendatore, M. G.; Moran, A. C.; Esteves, J. L.; *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* **2000**, 25, 70.
- Costa, G. A. N.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Estadual de Campinas, Brasil, 2005.
- Awashiti, N.; Kumar, A.; Makkar, R.; Cameotra, S.; *J. Environ. Sci. Health, Part B* **1999**, 34, 793.
- Mulligan, C. N.; Yong, R. N.; Gibbs, B. F.; *Environ. Sci. Technol.* **1999**, 33, 3812.
- Bognolo, G.; *Colloids Surf.* **1999**, 12, 41.
- Lang, S.; *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2002**, 7, 12.
- Peypoux, F.; Bonmatin, J. M.; Wallach, J.; *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **1999**, 51, 553.
- Cooper, D. G.; Macdonald, C. R.; Duff, S. J. B.; Kosaric, N.; *Appl. Environ. Microbiol.* **1981**, 42, 408.
- Hafenburg, D.; Hommel, R.; Kleber, H.; *Adv. Biochem. Eng.* **2003**, 33, 53.
- Kim, H.; Yoon, B.; Lee, C.; Suh, H.; Oh, H.; Katsuragi, T.; Tani, Y.; *J. Ferment. Bioeng.* **1997**, 84, 41.
- Arima, K.; Kakinuma, A.; Tamura, G.; *German Patent OS 1,903,987* **1968**.
- Kowall, M.; Vater, J.; Kluge, B.; Stein, T.; Franke, P.; Ziessow, D.; *J. Colloid Interface Sci.* **1998**, 204, 1.
- Kluge, B.; Vater, J.; Salnikow, J.; Eckart, K.; *FEBS Lett.* **1988**, 231, 107.
- Hsieh, F.; Li, M.; Lin, T.; Kao, S.; *Curr. Microbiol.* **2004**, 49, 186.
- Davis, D. A.; Lynch, H. C.; Varley, J.; *Enzyme Microb. Technol.* **1999**, 25, 322.

35. Lin, S. C.; Goursaud, J. C.; Kramer, P. J.; Georgiou G.; Sharma, M. M. Em *Microbial Enhancement of Oil Recovery – Recent Advances*; Donaldson, E. C., ed.; Elsevier Science Publishers: Amsterdam, 1990.
36. Stein, T.; *Mol. Microbiol.* **2005**, *56*, 845.
37. Nitschke, M.; *Tese de Doutorado*, Universidade Estadual de Campinas, Brasil, 2004.
38. Carrillo, C.; Teruel, J. A.; Aranda, F. J.; Ortiz, A.; *Biochem. Biophys. Acta* **2003**, *1611*, 91.
39. Nitschke, M.; Haddad, R.; Costa, G. A.; N.; Gilioli, R.; Meurer, E. C.; Gatti, M. S.; Eberlin, M. N.; Höehs, N. F.; Pastore, G. M.; *Food Sci. Biotechnol.* **2004**, *13*, 289.
40. Madan, T.; Kishore, U.; Singh, M.; Strong, P.; Clark, H.; Hussain, E. M.; Reid, K. B. M.; Sarma, P. U.; *J. Clin. Invest.* **2001**, *107*, 467.
41. Vollenbroich, D.; Özel, M.; Vater, J.; Kamp, R. M.; Pauli, G.; *Biologicals* **1997**, *25*, 289.
42. Kameda, Y.; Oira, S.; Matsui, K.; Kanatomo, S.; Hase, T.; *Chem. Pharm. Bull.* **1974**, *22*, 938.
43. Kikuchi, T.; Hasumi, K.; *Biochem. Biophys. Acta* **2002**, *1596*, 234.
44. Vollenbroich, D.; Pauli, G.; Ozel, M.; Vater, J.; *Appl. Environ. Microbiol.* **1997**, *63*, 44.
45. Hussain, A.; Arnold, J. J.; Khan, M. A.; Ahsan, F.; *J. Controlled Release* **2004**, *94*, 15.
46. Okumura, K.; Iwakawa, S.; Yoshida, S.; Seki, T.; Komada, F.; *Int. J. Pharm.* **1992**, *88*, 63.
47. Sheppard, J. D.; Jumarie, C.; Cooper, D. G.; Laprade, R.; *Biochem. Biophys. Acta* **1991**, *1064*, 13.
48. <http://www.cfsan.fda.gov>, acessada em Fevereiro 2006.
49. Mikkola, R.; Anderson, M. A.; Grigoriev, P.; Teplova, V. V.; Saris, N. L.; Rainey, F. A.; Mirja S.; Salkinoja-Salonen, M. S.; *Arch. Microbiol.* **2004**, *181*, 314.
50. Singh, P.; Cameotra, S. S.; *Trends Biotechnol.* **2004**, *22*, 142.
51. Desai, J. D.; Banat, I. M.; *Microbiol. Molec. Biol. Rev.* **1997**, *61*, 47.
52. Velikonja, N.; Kosaric, N. Em *Biosurfactants: production, properties, applications*; Kosaric, N., ed.; Marcel Decker: New York, 1993, cap. 16.
53. Bernheimer, A. W.; Avigad, L.; *J. Gen. Microbiol.* **1970**, *6*, 361.
54. Kachholz, T.; Schingmann, M. Em *Biosurfactants and Biotechnology*; Kosaric, N.; Cairns, W. L.; Gray, N. C. C., eds.; Marcel Dekker: New York, 1987, cap. 7.
55. Shigeta, A.; Yamashita, A.; *Jpn. Kokai Tokkyo Koho 61 205,449* **1986**.
56. Ohata, K.; Kamata, K.; *Jpn. Kokai Tokkyo Koho 61 227, 827* **1986**.
57. Ishigami, Y.; Gama, Y.; Nagahara, H.; Motomiya, T.; Yamagushi, M.; *Jpn. Kokai Tokkyo Koho 63 182,029* **1988**.
58. Daniels, L.; Linhardt, R. J.; Bryan, B.A.; Mayerl, F.; Pickenhagen, W.; *European Patent Appl. 282,942* **1988**.
59. Linhardt, R. J.; Bakhil, R.; Daniels, L.; Mayerl, F.; Pickenhagen, W.; *Biotechnol. Bioeng.* **1989**, *33*, 365.
60. Miyata, K.; Tsuchida, T.; Tawara, K.; *Jpn. Kokai Tokkyo Koho 62 155, 931* **1987**.
61. Torabizadeh, H.; Shajaosadati, S. A.; Tehrani, H. A.; *Lebensm.-Wiss. U-Technol.* **1996**, *29*, 734.
62. Shepherd, R.; Rockey, J.; Sutherland, I. M.; Roller, S.; *J. Biotechnol.* **1995**, *40*, 207.
63. Cameotra, S. S.; Makkar, R. S.; *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **1998**, *50*, 520.
64. Pandey, A.; Soccol, C. R.; Nigam, P.; Brand, D.; Mohan, R.; Roussos, S.; *Biochem. Eng. J.* **2000**, *6*, 153.
65. Makkar, R. S.; Cameotra, S. S.; *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2002**, *58*, 428.
66. Thompson, D. N.; Fox, S. L.; Bala, G. A.; *Appl. Biochem. Biotechnol.* **2000**, *84*, 917.
67. Sheppard, J. D.; Mulligan, C. N.; *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **1987**, *27*, 110.
68. Nitschke, M.; Ferraz, C.; Pastore, G. M.; *Braz. J. Microbiol.* **2004**, *35*, 81.
69. Mercade, M. E.; Manresa, M. A.; Robert, M.; Espuny, M. J.; Andres, C.; Guinea, J.; *Bioresour. Technol.* **1993**, *43*, 1.
70. Ohno, A.; Takashi, A.; Shoda, M.; *Biotechnol. Bioeng.* **1995**, *47*, 209.
71. Wosiacki, G.; Fioretto, A. M. C.; Almeida, M. M.; Cereda, M. P. Em *Manejo, uso e tratamento de subprodutos da industrialização da mandioca*; Cereda, M. P., ed.; Fund. Cargill: São Paulo, 2000, cap. 12.
72. Cabello, C.; Leonel, M.; Em ref. 71, cap. 9.
73. Pastore, G. M.; Santos, C. F. C.; Nitschke, M.; *Br. PI 0303853-0* **2003**.