



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA

Autorizada pelo Decreto Federal nº 77.496 de 27/04/76
Recredenciamento pelo Decreto nº 17.228 de 25/11/2016



PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COORDENAÇÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

XXIX SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UEFS SEMANA NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA - 2025

PRODUÇÃO DE BIOSSURFACTANTES POR BACTÉRIAS LÁCTICAS E APLICAÇÃO NA BIORREMEDIAÇÃO DE SOLOS CONTAMINADOS POR DERIVADOS DE PETRÓLEO

**Laura Silva Portela Oliveira¹; Eddy José Franciso de Oliveira²; Patricia Teixeira
Damasceno Lobo²**

1. Laura Silva Portela Oliveira, PIBITI/CNPq, CIÊNCIAS BIOLÓGICAS, e-mail: lportellasa@gmail.com

2. Eddy José Franciso de Oliveira, DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS, e-mail: eddyfo@uefs.br

2. Patricia Teixeira Damasceno Lobo, DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS, e-mail: ptdlobo@uefs.br

PALAVRAS-CHAVE: hidrocarbonetos; biotecnologia; bactérias lácticas, solo;
microrganismo.

INTRODUÇÃO

O avanço tecnológico, especialmente no setor automobilístico, intensificou a demanda por petróleo e seus derivados, aumentando sua extração e transporte. Esse processo tem contribuído para a contaminação de solos e águas subterrâneas, devido à toxicidade e ao potencial mutagênico dos hidrocarbonetos (Seo et al., 2009). Diante desse cenário, cresce o interesse por alternativas que favoreçam a degradação microbiana de poluentes, como o uso de compostos surfactantes. Embora amplamente utilizados em diversos setores industriais e domésticos, os surfactantes sintéticos apresentam limitações como baixa biodegradabilidade e elevada toxicidade (Ostendorf et al., 2019; Silva et al., 2022; Aparna; Srikanth; Smitha, 2011). Por isso, os biossurfactantes — produzidos por microrganismos — têm ganhado destaque por sua baixa toxicidade, alta biodegradabilidade e estabilidade em diferentes condições ambientais (Guzmán; Ortega; Rubio, 2024). Sua aplicação é promissora em áreas como biorremediação, agricultura, cosméticos, alimentos e fármacos. Em especial, o uso de biossurfactantes na biorremediação de ambientes contaminados por derivados de petróleo se mostra estratégico, considerando que postos de combustíveis são fontes recorrentes de poluição por vazamentos e resíduos (Campos et al., 2017). Apesar das exigências legais brasileiras para monitoramento e remediação, a persistência da poluição reforça a necessidade de soluções mais eficazes, como o uso de biossurfactantes. Alguns microrganismos assim como as bactérias lácticas representam um grupo de microrganismos que apresentam potencial de atuarem como produtoras de biossurfactante. Assim o objetivo dessa pesquisa é estimular a produção biotecnológica de biossurfactante por bactérias lácticas oriundas do semiárido baiano a partir de meios sintéticos e soro de leite como substratos de baixo custo com o intuito de utilizá-los na biorremediação de solos contaminados por derivados de petróleo.

MATERIAL E MÉTODOS

Padronização do inóculo

As cepas bacterianas selecionadas — H1 (*Lactobacillus rhamnosus*), R2 (*Enterococcus faecalis*) e TOM09 (*Enterococcus faecium*) — foram retiradas do banco de microrganismos do LAMASP. Os inóculos foram padronizados a $1,5 \cdot 10^8$ UFC/ mL e adicionados na proporção de 10% (v/v) em 3 diferentes meios de cultivo: meio 1 - (Caldo MRS), meio 2- (soro de leite 10%, sacarose 1% e extrato de levedura 1,5%) e meio 3((soro de leite 10%, sacarose 1%, extrato de levedura 1,5% e óleo diesel 1%). Os meios contendo os inóculos foram incubados em shaker a 120rpm e 35°C, por 5 dias. As análises foram feitas em triplicata.

Rendimento de biomassa e biossurfactante

O meio após fermentação foi centrifugado e a biomassa foi seca e quantificada por pesagem. A recuperação do biossurfactante foi realizada por acidificação do sobrenadante (pH 2), por 24 horas, centrifugação e secagem do resíduo em estufa.

Coefficiente de emulsificação

A atividade emulsificante utilizando tubos com 6 mL de óleo diesel e 4 mL de meio fermentado. Após agitação em vórtex por 2 minutos, foi medida a altura da emulsão. O índice foi calculado pela razão entre a altura da emulsão e a altura total da mistura. Tubos com Tween 20 (Polissorbato 20) foram utilizados como controle positivo. A leitura foi realizada nos tempos 0 (E0) e 24 horas (E24),

Teste de dispersão de óleo em água

No teste de dispersão de óleo em água. foram adicionados em placas de petri 40 mL de água destilada, 1 mL de óleo queimado e 0,5 mL do caldo fermentado livre de células. As medições dos halos, que se formaram, foi realizada em 3 tempos: T0 (assim que finalizou o procedimento), T10 (após 10 minutos) e T60 (após 60 minutos). Em seguida foram realizados cálculos conforme a equação: $ADO = 3,14 \times r^2$, para saber o deslocamento de óleo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A produção de biossurfactante pelas cepas TOM09 (*E. faecium*), R2 (*E. faecalis*) e H1 (*L. rhamnosus*) apresentou variações significativas de acordo com o meio de cultivo utilizado (Figura 1). O meio MRS foi o que resultou nos maiores rendimentos, especialmente para a cepa H1, que atingiu aproximadamente 1,17 g/L, valor substancialmente superior ao obtido nos demais tratamentos. Esse desempenho ressalta a eficiência do MRS como meio de cultivo, provavelmente por sua formulação balanceada em nutrientes essenciais ao metabolismo microbiano, favorecendo a síntese de metabólitos secundários.

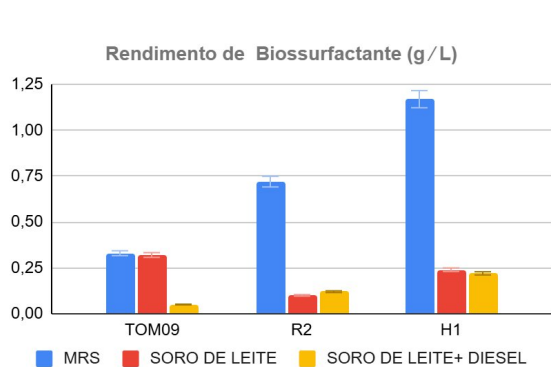


Figura1- Produção de Biossurfactante (g/ L em diferentes meios de cultivo.

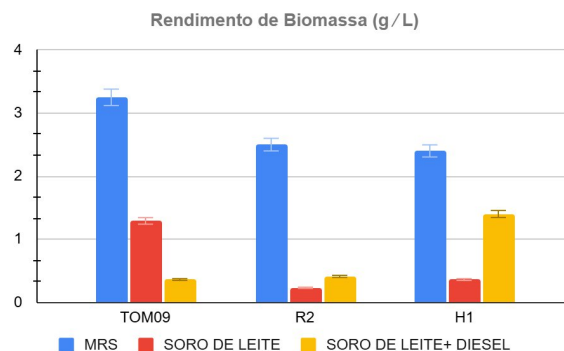


Figura1- Produção de Biomassa g/ L em diferentes meios de cultivo.

A produção de biomassa pelas cepas TOM09 , R2 e H1 variou significativamente em função do meio de cultivo (Figura 2). Assim como observado para a síntese de biossurfactantes, o meio MRS promoveu o melhor desempenho em termos de crescimento celular. A cepa TOM09 foi a mais eficiente nesse meio, alcançando aproximadamente 3,25 g/L de biomassa, seguida por R2 (2,55 g/L) e H1 (2,45 g/L). Os dados indicam que o meio MRS é o mais adequado para maximizar a produção de biossurfactantes, com destaque para a cepa H1, que demonstrou elevado potencial biotecnológico. Já o uso de subprodutos agroindustriais, como o soro de leite, embora apresente menor eficiência, mostra-se uma alternativa viável e sustentável, sobretudo quando suplementado com compostos indutores como o diesel. Essa abordagem pode reduzir custos de produção e contribuir para processos mais ecológicos, ainda que demande otimização das condições de cultivo.

O índice de emulsificação variou conforme a cepa e o meio de cultivo. No MRS, os valores foram moderados (45–54%) e caíram levemente após 24h, indicando baixa estabilidade das emulsões. No soro de leite, observaram-se os maiores índices iniciais, chegando a 77,5% para TOM09, mas com queda acentuada após 24h, revelando instabilidade. Já o soro suplementado com diesel apresentou desempenho intermediário, mas com emulsões mais estáveis ao longo do tempo (61–64% em 24h para R2 e H1), sugerindo que o diesel induz a produção de biossurfactantes com maior afinidade hidrofóbica. O controle positivo confirmou a tendência natural de redução da estabilidade (100% para ~84%), conforme apresentado na tabela 1.

Tabela 1- Índice de emulsificação (%) do caldo fermentado livre de células oriundo das bactérias lácticas estudadas.

MEIO DE CULTIVO	TOM09		R2		H1	
	0h	24h	0h	24h	0h	24h
MRS	45,5± 3,0	45,8± 2,7	52,0 ±4,0	42,6 ±2,6	53,9 ±3,6	48,6±6,2
SORO DE LEITE	77,5 ±8,7	63,9 ±1,6	67,1±2,9	59,0±1,2	67,3±1,9	57,4±3,6
SORO DE LEITE + ÓLEO DIESEL	63,1±6,0	59,4±7,0	68,8±2,4	64,0±2,3	69,4±1,9	61,7±2,9
CONTRLE	100±0,0	84,2±4,2	100±0,0	84,2±4,2	100±0,0	84,2±4,2

No ensaio de dispersão de óleo em água, nenhuma das amostras avaliadas apresentou formação de halo, indicando ausência de propriedades associadas à redução da tensão superficial e à afinidade com a fase oleosa nos biossurfactantes produzidos. Considerando, entretanto, que os isolados demonstraram boa atividade emulsificante, é plausível inferir que

esse resultado esteja relacionado à baixa concentração de biossurfactante presente no caldo fermentado, insuficiente para promover a dispersão visível do óleo.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados evidenciam que o meio MRS foi o mais eficiente para a produção de biomassa e biossurfactante, com destaque para a cepa H1, que apresentou o melhor desempenho geral. Entre os meios alternativos, o soro de leite suplementado com óleo diesel proporcionou melhores resultados, sugerindo que o hidrocarboneto atuou como indutor metabólico, sobretudo para a cepa H1. A cepa TOM09 obteve elevado rendimento no MRS e destacou-se no soro de leite puro, indicando capacidade de aproveitamento direto desse substrato. Já a cepa R2 apresentou resultados consistentes, com produção estável nos diferentes meios. No que se refere à atividade emulsificante, os meios à base de soro, especialmente o soro puro, mostraram-se mais eficazes que o MRS, alcançando os melhores índices de emulsificação e reforçando o potencial do uso de subprodutos agroindustriais como alternativa sustentável para a produção de biossurfactantes.

REFERÊNCIAS

1. APARNA, A.; SRINIKETHAN, G.; SMITHA, H. Effect of addition of biosurfactant produced by *Pseudomonas* spp. on biodegradation of crude oil. In: International Conference on Environmental Science and Technology, 2, Singapore, 2011.
2. BRASIL, Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Registro de produtos remediadores. Acesso gov.br em julho 2023.
3. CAMPOS, M. A. A.; FERNANDES, A. P. S. M.; ANDRÉ, L. C. Avaliação da exposição ocupacional ao benzeno em trabalhadores frentistas e analistas de combustíveis utilizando o Teste Cometa como biomarcador de genotoxicidade. *Rev. Bras. Saúde Ocup.*, 2017; 42 Supl: e05.
4. CARDOSO, J. E. T.; LODI, P. C.; DE BARROS, A. M. T. C. Técnicas associadas de remediação de contaminação da água e do solo por hidrocarbonetos: Estudo de Caso em Posto de Combustível. *Revista Nacional de Gerenciamento de Cidades*, 5(36), 2017.
5. CAETANO, R. G. Isolamento e identificação molecular de bactérias lácticas e leveduras envolvidas no processo fermentativo da mandioca para produção de tucupi e avaliação higiênico sanitário, 2018.