

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
ESCOLA DE ENGENHARIA DE LORENA  
FERNANDA GONÇALVES BARBOSA

Bioemulsifier under the context of integrated biorefineries: Biotechnological production,  
chemical characterization and application

Bioemulsificante no contexto de biorrefinarias integradas: Produção biotecnológica,  
caracterização química e aplicação

Lorena

2022

## RESUMO

BARBOSA, F.G. Bioemulsificante no contexto de biorrefinarias integradas: Produção biotecnológica, caracterização química e aplicação. 2022. 222p. Tese (Doutorado em Ciências) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2022.

Os surfactantes microbianos são moléculas anfipáticas, possuem propriedades tensoativas e emulsificantes. São capazes de reduzir a tensão superficial e interfacial entre diferentes fases, e emulsificar líquidos imiscíveis. Quando esses compostos atuam preferencialmente como agentes estabilizadores de emulsão, essas moléculas são chamadas de bioemulsificantes. Estes possuem alto peso molecular, e estruturas complexas, como os lipopolissacarídeos e heteropolissacarídeos. Devido a suas propriedades, essas moléculas têm aplicações em diversos setores industriais, como cosméticos, farmacêutico, e na agrícola. Os bioemulsificantes são produzidos a partir de processos fermentativos por bactérias, fungos e leveduras. O desafio do uso desses compostos no setor industrial é o custo de sua produção. Nesse contexto, foi realizado a produção de bioemulsificante pela levedura *Scheffersomyces shehatae* 16-BR6-2AI em meio de cultivo a base de hidrolisado hemicelulósico do bagaço de cana-de-açúcar e óleo de soja como fontes de carbono. Este bioemulsificante foi caracterizado por análises físico-químicas e estruturais, além de estudar suas propriedades emulsificantes. Posteriormente, foi realizada otimização dos parâmetros nutricionais no meio de cultura contendo hidrolisado hemicelulósico do bagaço de cana-de-açúcar, óleo de soja, peptona e nitrato de amônio para a produção dessa biomolécula pela levedura *S. shehatae* 15-BR6- 2AI. Além disso, foi avaliado o uso do bioemulsificante como agente de limpeza a partir do desenvolvimento de formulações para limpeza geral e cosméticos. A partir das análises, o bioemulsificante foi caracterizado como um polímero contendo 53 % de carboidratos, 40,92 % de proteínas e 6,08 % de lipídios. O espectro da análise de espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) confirmou a presença de grupos funcionais como amidas, aminas e carbonila. O bioemulsificante foi estável em ampla faixa de temperatura (-20 °C a 120 °C), salinidade (1-15 %) e pH (2-12). Observou-se que a biomolécula tem melhor ação emulsificante em solventes orgânicos de caráter apolar (hexano, ciclohexano, fenol, clorofórmio, tolueno, querosene). Com a otimização nutricional da produção do bioemulsificante pela levedura *S. shehatae* 16-BR6-2AI, o meio de cultivo apresentou a composição de 33,63 g/L hidrolisado de hemicelulose de bagaço de cana-de-açúcar, 5,9 % óleo de soja, 6 g/L peptona e 5 g/L nitrato de amônio. Análise da influência das fontes de carbono mostraram que a combinação de ambos substratos aumentam o crescimento microbiano e a produção de bioemulsificante. Na condição otimizada, a levedura *S. shehatae* mostrou máxima produção de bioemulsificante em 24 horas, com produtividade de  $PP = 0.467 \text{ g /L/h}$ . Para avaliar o uso dessa biomolécula, foram desenvolvidas duas formulações. A primeira é um biosabão líquido, utilizando o bioemulsificante como princípio ativo e sua ação de limpeza foi analisada por lavagem de tecidos de algodão e pratos. De acordo com os resultados, a formulação desenvolvida mostrou eficiente remoção das sujidades. Por outro lado, a segunda formulação consiste de um gel de limpeza esfoliante, com o bioemulsificante responsável pela ação de limpeza, a casca de arroz e café moídas como agentes esfoliantes. A estabilidade do gel de limpeza e esfoliação (segunda formulação) foi avaliada por teste de centrifugação. O resultado mostrou que esta formulação permaneceu estável e homogênea. Além disso, também foi determinada a viscosidade da formulação e esta análise indicou que a formulação possui características de um fluido não-Newtoniano pseudoplástico. Neste trabalho, foi demonstrado a produção sustentável do bioemulsificante por leveduras em meio de cultura contendo substratos renováveis derivados de importantes biorrefinarias.

Palavras-chave: Bioemulsificante. Hidrolisado hemicelulósico. Óleo de soja. Biorrefinarias. Cosméticos

## ABSTRACT

BARBOSA, F.G. Bioemulsifier under the context of integrated biorefineries: Biotechnological production, chemical characterization and application. 2022. 222p. Thesis (Doctoral of Science) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2022.

Microbial surfactants are amphiphathic molecules, that have surface-active and emulsifying properties. They can reduce surface and interfacial tension between different phases and emulsify immiscible liquids. When these compounds act preferentially as emulsion stabilizing agents, these molecules are called bioemulsifiers. These have high molecular weight and complex structures, like lipopolysaccharides and heteropolysaccharides. Due to their properties, these molecules have applications in various industrial sectors, like cosmetics, pharmaceuticals, and agriculture. Bioemulsifiers are produced from fermentation processes by bacteria, fungi, and yeast. The challenge of using these compounds in the industrial sector is their cost of production. In this context, a bioemulsifier was produced by the yeast *Scheffersomyces shehatae* 16-BR6-2AI in a culture medium containing sugarcane bagasse hemicellulosic hydrolysate and soybean oil as carbon sources. This bioemulsifier was characterized by physicochemical and structural analyses, in addition to the study of their emulsifying properties. Subsequently, the optimization of nutritional parameters in a culture medium containing sugarcane bagasse hemicellulose hydrolysate, soybean oil, peptone, and ammonium nitrate was carried out for the production of this biomolecule by the yeast *Scheffersomyces shehatae* 16-BR6-2AI. Furthermore, the application of the bioemulsifier as a cleaning agent was evaluated from the development of formulations for general cleaning and cosmetics. From the analysis, the bioemulsifier was characterized by polymer containing 53 % of carbohydrates, 40.92 % of proteins, and 6.08 % of lipids. The analysis of infrared spectroscopy (FTIR) spectrum confirmed the presence of functional groups such as amides, amines, and carbonyls. The bioemulsifier was stable over a wide temperature range (-20 °C to 120 °C), salinity (1-15 %), and pH (2-12). It was observed that the biomolecule has a better emulsifying action using non-polar organic solvents (hexane, cyclohexane, phenol, chloroform, toluene, kerosene). With the nutritional optimization of the production of the bioemulsifier by the yeast *Scheffersomyces shehatae* 16-BR6- 2AI, the culture medium presented a composition of 33.63 g/L sugarcane bagasse hemicellulose hydrolysate, 5.9 % soybean oil, 6 g /L peptone, and 5 g/L ammonium nitrate. Analysis of the influence of carbon sources showed that the mixture of both substrates increased microbial growth and bioemulsifier production. In the optimized condition, the yeast *S. shehatae* showed bioemulsifier maximum production in 24 hours with productivity of PP = 0.467 g /L/h. In order to evaluate the application of this bioemulsifier, two formulations of this biomolecule were developed. The first is a liquid biosoap, using the bioemulsifier as a cleaning agent and their cleaning action was analyzed by washing cotton fabrics and dishes. According to the results obtained, the developed formulation showed efficient removal of dirtiness. On the other hand, the second formulation consists of an exfoliating cleaning gel, with the bioemulsifier responsible for the cleaning action and ground rice and coffee husks as exfoliating agents. The stability of exfoliating cleansing gel (second formulation) was evaluated by centrifugation test. The results showed that this formulation remained stable and homogeneous. In addition, the viscosity of the formulation was also determined, and this analysis indicated that formulation showed characteristics of a non-Newtonian pseudoplastic fluid. In this work, it was demonstrated a sustainable production of bioemulsifier by yeast in a culture medium containing renewable by-products derived from major biorefineries.

Keywords: Bioemulsifier. Hemicellulose hydrolysate. Soybean oil. Biorefineries. cosmetics