



**UNIVERSIDADE CATÓLICA DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
MESTRADO EM DESENVOLVIMENTO DE PROCESSOS AMBIENTAIS**

RENATA RAIANNY DA SILVA

**PRODUÇÃO DE BIOSURFACTANTE E
APLICAÇÃO NA REMEDIAÇÃO DE AMBIENTES
CONTAMINADOS POR METAIS PESADOS**

Recife, 14 de Março de 2022

RENATA RAIANNY DA SILVA

**PRODUÇÃO DE BIOSSURFACTANTE E
APLICAÇÃO NA REMEDIÇÃO DE AMBIENTES
CONTAMINADOS POR METAIS PESADOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento em Processos Ambientais da Universidade Católica de Pernambuco, como pré-requisito para obtenção do título de Mestre em Desenvolvimento de Processos Ambientais.

Área de Concentração: Desenvolvimento em Processos Ambientais

Linha de Pesquisa: Biotecnologia e Meio Ambiente

Orientadora: Profa. Dra. Juliana Moura de Luna

Co-orientadora: Profa. Dra. Leonie Asfora Sarubbo

Recife

2022

Ficha Catalográfica

S586p Silva, Renata Raianny da.
Produção de biossurfactante e aplicação na remediação de ambientes contaminados por metais pesados / Renata Raianny da Silva, 2022.
83 f. : il.

Orientadora: Juliana Moura de Luna.
Coorientadora: Leonie Asfora Sarubbo
Mestrado (Dissertação) - Universidade Católica de Pernambuco. Programa de Pós-graduação em Desenvolvimento de Processos Ambientais. Mestrado em Desenvolvimento de Processos Ambientais, 2022.

1. Leveduras. 2. Biossurfactantes. 3. Resíduos Industriais. 4. Biotecnologia. I. Título.

CDU 574.6

Pollyanna Alves - CRB/4-1002

PRODUÇÃO DE BIODISSURFACTANTE E APLICAÇÃO NA REMEDIAÇÃO DE AMBIENTES CONTAMINADOS POR METAIS PESADOS

RENATA RAIANNY DA SILVA

Examinadores:

Juliana Moura de Luna

Profa. Dra. Juliana Moura de Luna (Orientadora)
Universidade Católica de Pernambuco - UNICAP

Raquel Diniz Rufino

Profa. Dra. Raquel Diniz Rufino
Universidade Católica de Pernambuco - UNICAP

ANA LUCIA FIGUEIREDO
PORTO:25514776468

Profa. Dra. Ana Lúcia Figueiredo Porto
Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE

Defendida em: 14/03/2022.

Coordenador (a): Prof. Dr. Sérgio Mendonça de Almeida

DEDICATÓRIA

Ao meu amor, Gustavo Henrique P. B. de Melo.

Aos meus pais, Edilene Maria da Silva e Luiz Domingos da Silva.

À minha orientadora, Juliana Moura de Luna.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela vida e oportunidade de chegar até aqui, que com sua graça imensurável tem me abençoado e me dado sabedoria.

À Profa. Dra. Juliana Moura de Luna, pela orientação, atenção, incentivo, paciência, e principalmente pela aprendizagem e transmissão de conhecimentos científicos.

À Profa. Dra. Leonie Asfora Sarubbo pelo suporte e atenção.

Ao Prof. Dr. Sérgio Mendonça de Almeida, pela atenção, paciência e suporte.

Ao meu esposo, Gustavo Melo, pelo amor, dedicação, apoio, conselhos e incentivo em todos os momentos.

Aos meus pais, Luiz Domingos da Silva e Edilene Maria da Silva, pelo incentivo, conselhos e dedicação.

Ao meu irmão Rafael, pelo incentivo e amizade.

Aos meus amigos de pesquisa, em especial, Júlio Vasconcelos e Yali Alves, pela ajuda, atenção e incentivo.

Ao colega Hugo Morais, pela ajuda e contribuição no desenvolvimento da pesquisa.

Aos professores do Programa de Pós Graduação do Mestrado em Desenvolvimento de Processos Ambientais pelos conhecimentos transmitidos e suporte.

À Profa. Dra. Galba Maria de Campos Takaki, pela atenção, ajuda e incentivo.

À pesquisadora do Núcleo de Pesquisas em Ciências Ambientais (NPCIAMB) Profa. Dra. Rosileide Fontenele, pela ajuda e contribuição.

Ao laboratorista Lucas Ferreira Rocha, pela assistência durante a pesquisa.

À CAPES, pela concessão da bolsa para realização da pesquisa.

Enfim, a todos que contribuíram de maneira direta ou indireta para realização deste trabalho.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	v
LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE TABELAS	x
RESUMO	xi
ABSTRACT	xiii

CAPÍTULO I

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	15
2.1 Objetivo Geral.....	15
2.2 Objetivos Específicos.....	15
3 REVISÃO DA LITERATURA	16
3.1 Metais e meio ambiente.....	16
3.2 Biossurfactantes.....	18
3.2.1 Propriedades.....	19
3.2.2 Classificação.....	21
3.3 Microrganismos produtores de biossurfactantes.....	23
3.4 Produção de biossurfactantes a partir de resíduos industriais.....	25
3.5 Aplicações ambientais.....	27
3.5.1 Biorremediação.....	27
3.5.2 Aplicação na limpeza de reservatórios de óleos.....	29
3.5.3 Aplicações na remoção de metais pesados.....	29
3.6 Utilização industrial de biossurfactantes.....	32
REFERÊNCIAS	34

CAPÍTULO II

PATENTE I: PROCESSO DE PRODUÇÃO DE BIOSURFACTANTE POR *Candida Bombicola*

Resumo	45
Processo de produção de biossurfactante por <i>Candida bombicola</i>	46
Campo técnico	46

Estado da técnica.....	46
Problemas do estado da técnica.....	48
Objetivo da invenção.....	49
Vantagem da invenção.....	49
Breve descrição dos desenhos.....	50
Descrição geral da invenção.....	50
Descrição detalhada da invenção.....	51
Reinvidicações.....	53
Figuras.....	54

CAPÍTULO III

PATENTE II: NOVO BIOPRODUTO (BOMBISAN) COM POTENCIAL DE APLICAÇÃO NA REMOÇÃO DE METAIS PESADOS

Resumo.....	56
Novo bioproduto (Bombisan) com potencial de aplicação na remoção de metais pesados.....	57
Campo técnico.....	57
Estado da técnica.....	57
Problemas do estado da técnica.....	58
Objetivo da invenção.....	60
Vantagens da invenção.....	60
Breve descrição dos desenhos.....	61
Descrição geral da invenção.....	62
Descrição detalhada da invenção.....	64
Reinvidicações.....	66
Figuras.....	67

CAPÍTULO IV

CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	76
ANEXOS.....	77

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1 – Formação de micelas na concentração micelar crítica.....	20
Figura 2 - Estruturas das principais classes de biossurfactantes.....	23
Figura 3 – Estruturas dos soforolípídeos produzidos por <i>C. bombicola</i>	24
Figura 4 – Mecanismos de remoção de metais pesados de solos contaminados usando biossurfactante.....	31

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1 – Diferentes substratos residuais de baixo custo explorados para produção de biossurfactante.....26

Tabela 2 – Aplicação de biossurfactante em diferentes indústrias.....34

RESUMO

A contaminação dos solos por metais pesados é resultado de diferentes atividades industriais, e, podem causar riscos ambientais como contaminação dos sistemas biológicos e do subsolo através do processo de lixiviação, vários distúrbios e doenças em seres humanos se entrarem no ecossistema devido a sua alta toxicidade. Diante dessa realidade, o desenvolvimento de novas tecnologias de remediação dos contaminantes gerados torna-se cada vez mais emergencial. Os biossurfactantes consistem em metabólitos secundários de bactérias, leveduras e fungos filamentosos. Considerando o potencial das leveduras do gênero *Candida* em produzir surfactantes atóxicos e biodegradáveis, este trabalho objetivou a produção de um biossurfactante de baixo custo produzido por *Candida bombicola* URM3718 e aplicação na remediação de ambientes contaminados por metais pesados. A primeira invenção refere-se ao processo de produção do biossurfactante por *C. bombicola*, utilizando resíduos agroindustriais (melaço, milhocina e óleo de soja residual). A segunda invenção refere-se ao potencial de aplicação do Bioproduto (Bombisan) na remoção de metais pesados. Testes de estabilidade da tensão superficial e índice de emulsificação do Bioproduto foram realizadas em condições extremas de temperaturas (0°C, 5°C, 70°C, 100°C e 120°C), pH (2-12) e concentrações de NaCl (2 – 12) demonstrando a estabilidade do Bombisan. O Bioproduto foi caracterizado como sendo uma molécula aniônica de natureza polimérica e atóxica. Apresentou potencial de remoção de metais pesados em solo contaminado, sob condições dinâmicas, demonstraram remoção de Fe, Zn e Pb com percentuais entre 70 a 88 %, enquanto que a maior remoção de Pb foi de 48 %. Testes em colunas empacotadas também confirmaram a capacidade do Bioproduto na remoção de Fe, Zn e Pb, entre 40 e 65 %. A cinética de remoção demonstrou um percentual crescente, atingindo remoção de 50, 70 e 85 % para Pb, Zn e Fe, respectivamente, alcançando uma maior eficiência de remoção no final de 24 horas. O biossurfactante também foi capaz de reduzir significativamente a condutividade elétrica de soluções contendo metais pesados. O Bioproduto (Bombisan) apresenta potencial de aplicação em processos industriais de remediação de solos e efluentes poluídos por contaminantes inorgânicos.

Palavras-chave: *Candida bombicola*. Resíduos Industriais. Bioproduto. Biotecnologia.

ABSTRACT

Soil contamination by heavy metals is a result of different industrial activities, and can cause environmental risks such as contamination of biological systems and the subsoil through the leaching process, various disorders and diseases in humans if they enter the ecosystem due to their high toxicity. Due this reality, the development of new technologies to remediate the generated contaminants becomes increasingly urgent. Biosurfactants consist of secondary metabolites from bacteria, yeasts and filamentous fungi. Considering the potential of yeast from *Candida* genera to produce non-toxic and biodegradable surfactants, this work aimed at the production of a low-cost biosurfactant produced by *Candida bombicola* URM3718 and application in the remediation of environments contaminated by heavy metals. The first invention refers to the biosurfactant production process by *C. bombicola*, using agro-industrial residues (molasses, corn steep liquor and residual soybean oil). The second invention refers to the potential application of the Bioproduct (Bombisan) in the removal of heavy metals. Tests for the stability of the surface tension and emulsification index of the Bioproduct were carried out under extreme conditions of temperatures (0°C, 5°C, 70°C, 100°C and 120°C), pH (2-12) and concentrations of NaCl (2 – 12) demonstrating the stability of Bombisan. The Bioproduct was characterized as being an anionic molecule of polymeric nature and non-toxic. It showed potential for heavy metals removal in contaminated soil, under dynamic conditions, showed removal of Fe, Zn and Pb with percentages between 70 and 88 %, while the highest removal of Pb was 48 %. Tests on packed columns also confirmed the ability of the Bioproduct to remove Fe, Zn and Pb, between 40 and 65 %. The removal kinetics showed an increasing percentage, reaching removal of 50, 70 and 85% for Pb, Zn and Fe, respectively, reaching a higher removal efficiency at the end of 24 hours. The biosurfactant was also able to significantly reduce the electrical conductivity of solutions containing heavy metals. The Bioproduct (Bombisan) has potential for application in industrial processes to remediate soils and effluents polluted by inorganic contaminants.

Keywords: *Candida bombicola*. Industrial Residues. Bioproduct. Biotechnology.

CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO

Os surfactantes são compostos anfipáticos com porções tanto hidrofílicas quanto hidrofóbicas que preferencialmente particionam entre interfaces líquidas com diferentes graus de polaridade e pontes de hidrogênio. Surfactantes aumentam a solubilidade de moléculas hidrofílicas, reduzindo as tensões superficiais e interfaciais na interface óleo/água (KUMAR et al., 2021). Os surfactantes mais produzidos atualmente são quimicamente derivados do petróleo, todavia, esses agentes tensoativos sintéticos são tóxicos e difíceis de decompor através da ação de microrganismos. Nos últimos anos, esses problemas motivaram a comunidade científica a procurar surfactantes, como os alcançados através da produção microbiana, os biossurfactantes (GAUR et al., 2022; ROCHA E SILVA et., 2019).

Os biossurfactantes despertam o interesse de diferentes indústrias devido as suas diversas vantagens como diversidade estrutural, baixa toxicidade, maior biodegradabilidade, capacidade de funcionar em amplas faixas de pH, temperatura e salinidade, além de maior seletividade, menor CMC (Concentração Micelar Crítica) e produção envolvendo fontes renováveis, resíduos e subprodutos industriais (MOHANTY et al., 2021; ROCHA E SILVA et al., 2019). A natureza iônica, a biodegradabilidade, a baixa toxicidade e as excelentes propriedades da superfície tornam os biossurfactantes potenciais candidatos à remoção de metais pesados do solo e dos sedimentos. Leveduras do gênero *Candida* têm sido utilizadas com sucesso na produção de biossurfactantes (ROCHA JUNIOR et al., 2019).

Leveduras tem a capacidade de crescer tanto em substratos imiscíveis na água, tais como óleos vegetais e hidrocarbonetos, quanto em compostos solúveis em água, a exemplo de carboidratos e glicerol. As condições de cultura e composição do meio determinam a produção e composição do biossurfactante, exercendo influência na sobrevivência dos microrganismos produtores, aumentando a solubilidade de compostos insolúveis na água e facilitando seu transporte para a célula (RIBEIRO et al., 2020).

A contaminação do solo por metais pesados é resultado de diferentes atividades antrópicas, como mineração, fundição de metais, produção de baterias de automóveis, queima de combustíveis fósseis e galvanoplastia, curtimento de couro e também através de produtos como tintas e pigmentos, conservantes, fertilizantes e outros produtos químicos (MISHRA et al., 2021). Os metais pesados podem causar riscos ambientais como contaminação dos sistemas biológicos e do subsolo através do processo de lixiviação, além disso, podem ocasionar vários distúrbios e doenças em humanos se entrarem no ecossistema devido a sua alta toxicidade ambiental e difícil degradabilidade. Os agentes não tóxicos e biodegradáveis

como os biossurfactantes podem ser utilizados para melhorar a remoção de metais pesados do solo, sedimentos e lodo (TANG et al., 2018).

Embora as pesquisas na área de biotecnologia relacionadas à produção de biossurfactantes sejam de grande interesse industrial e ambiental, poucos têm sido comercializados. A produção industrial de biossurfactantes será mais competitiva a partir do desenvolvimento de processos econômicos. Três estratégias têm sido adotadas para tornar esse processo competitivo: o uso de substratos de baixo custo, o desenvolvimento de bioprocessos eficazes, incluindo a otimização das condições de cultivo e a recuperação do produto final e a utilização de cepas microbianas superprodutoras para assegurar maiores rendimentos (GEETHA et al., 2018).

Nesse contexto, o processo fermentativo possui a chave para reduzir os custos no que se refere à utilização de substratos alternativos, uma vez que estes representam cerca de 30% do custo total. Em geral, substratos agroindustriais que contenham altos níveis de carboidratos ou de lipídeos suprem a necessidade de fonte de carbono para a produção de biossurfactantes (KARNWAL, 2021).

Assim, a utilização de resíduos diminui os custos de produção para níveis competitivos em relação aos similares obtidos por via petroquímica ao mesmo tempo em que reduz os problemas ambientais relativos a descartes e tratamentos dos resíduos gerados (KARLAPUDI et al., 2018). O reaproveitamento de resíduos industriais, aliado à capacidade sintética de leveduras, representa uma alternativa econômica de produção de biossurfactantes com características multifuncionais e potenciais de aplicações nos mais diversos setores industriais.

Portanto, a produção e aplicação do agente surfactante produzido por *C. bombicola* oferece benefícios econômicos e estratégicos quando utilizados como tecnologia de remediação de solos contaminados por metais pesados. É promissor frente a impactos econômicos, uma vez que, essa biomolécula possui alto valor agregado e é produzida a partir de substratos de baixo custo; impactos sociais, levando em consideração que sua utilização minimiza os riscos para saúde através da remoção de poluentes do meio ambiente; e, impactos ambientais, tendo em vista que, o biossurfactante desenvolve perspectivas de redução de poluição ambiental através da aplicação de agentes surfactantes biodegradáveis.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Produzir e aplicar um biossurfactante a partir de *Candida bombicola* na remoção de metais pesados em solos e efluentes aquosos atendendo aos aspectos econômicos, sociais e de preservação ambiental.

2.2 Objetivos Específicos

- Produzir o biossurfactante utilizando resíduos industriais.
- Isolar o biossurfactante produzido e determinar o rendimento de produção.
- Determinar a eficiência e a efetividade do biossurfactante através da determinação da tensão superficial e da Concentração Micelar Crítica.
- Determinar a carga iônica do biossurfactante.
- Determinar a caracterização química do biossurfactante.
- Determinar a ecotoxicidade do biossurfactante.
- Avaliar a eficiência do biossurfactante bruto e isolado na remoção de metais pesados adsorvido em solo através de ensaio estático em colunas empacotadas.
- Avaliar a aplicação do biossurfactante bruto e isolado, na remoção de metais pesados em solo através de ensaios cinéticos em frascos.
- Determinar a cinética de remoção de metais pelo biossurfactante.
- Investigar o potencial do biossurfactante na remoção de metais contidos em efluente sintético.
- Determinar a atividade quelante do biossurfactante sobre os metais contidos no efluente sintético.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Metais Pesados e Meio Ambiente

Os metais pesados podem surgir tanto de maneira natural, quanto de processos antropogênicos e acabam em diferentes compartimentos ambientais, como nos solos, na água, no ar e em suas interfaces. Sob determinadas condições ambientais as emissões de metais pesados podem ocorrer de forma natural, como é o caso de erupções vulcânicas, incêndios florestais e intemperismo de rochas. A emissão de metais pesados através de fontes antropogênicas ocorre de atividades industriais, rejeito de minas, descarte de resíduos com alto teor de metais, gasolina e tintas com chumbo, aplicação de fertilizantes no solo, resíduos de combustão de carvão, derramamento de produtos petroquímicos e diversos outros meios (MASINDI; MUEDI, 2018).

Os metais pesados (metais com densidade igual ou superior a 5 e número atômico superior a 11) mesmo em concentrações muito baixas são geralmente tóxicos e por não ser biodegradáveis resistem aos tratamentos convencionais de eliminação. Além de graves problemas ambientais prejudiciais a fauna e a flora, a exposição a metais pesados pode causar várias doenças humanas graves, como problemas respiratórios, patologia renal, distúrbios neurológicos e câncer (SALL et al, 2020).

Vários metais pesados, incluindo ferro (Fe), cobalto (Co), cobre (Cu), manganês (Mn), zinco (Zn) e molibdênio (Mo) são micronutrientes que em baixas concentrações são essenciais para atividades metabólicas. Porém, quando as concentrações de metais pesados ultrapassam um determinado limite, produzem efeitos adversos. De maneira geral, altas concentrações de qualquer metal pesado apresentam efeitos tóxicos, no entanto, os metais pesados arsênio (As), cádmio (Cd), chumbo (Pb), mercúrio (Hg) e cromo (Cr) (VI) são toxinas sem limiar, devido a sua alta toxicidade estão entre os metais pesados prioritários e são referidos como metais pesados tóxicos (THMs). Os THMs estão presentes na natureza em diferentes estados oxidativos com diferentes níveis toxicidade (RAHMAN e SINGH, 2019).

A poluição dos solos por metais pesados tornou-se uma questão ambiental mundial devido a crescente preocupação com a segurança dos produtos agrícolas. Globalmente, existem 5 milhões de locais com solos poluídos cobrindo 500 milhões de hectares de terra, estes solos estão contaminados por diferentes metais pesados ou metaloides. A poluição por metais pesados no solo tem um impacto econômico global estimado em mais de US\$ 10 bilhões por ano (LI et al., 2019).

O acúmulo mundial de metais pesados em solos europeus e americanos já atinge valores de 939.000 t de cobre, 783.000 t de chumbo, 1.372.000 t de zinco e 22.000 t de cádmio. Nos Estados Unidos, por exemplo, o chumbo se encontra presente em 15% dos terrenos contaminados, seguido de cromo, cádmio e cobre, encontrados em cerca de 7-11% dos solos (SARUBBO et al., 2018).

No Brasil, apesar de não possuir uma legislação adotada à realidade do país para os níveis máximos permitidos, registra altos índices de contaminação industrial desses poluentes.

Em 5 de novembro de 2015 a barragem de rejeitos de minério do fundão, operada pela mineradora Samarco no distrito de Mariana no estado de Minas Gerais rompeu, e liberou mais de 50 milhões de m³ de lama contaminada com metais pesados tóxicos, causando um grande desastre ambiental. O solo e a água do Rio Doce foram analisados e foram registrados altos níveis de ferro, arsênio, mercúrio e manganês (PAULELLI et al., 2022).

O Distrito de Lavras do Sul (RS) é conhecido desde o século XIX por apresentar grande diversidade litológica, a região é caracterizada pela ocorrência de mineralização de metais básicos associados a sulfetos, ouro, cobre, chumbo, zinco e prata (GOMES et al., 2020). Nos últimos anos, o aumento significativo da extração de metais no Brasil tem causados sérios problemas ambientais. Lavras do Sul sofre os efeitos da mineração de metais em seu entorno, os efluentes contendo compostos químicos provenientes da mineração são lançados em cursos d'água sem nenhum tratamento prévio adequado (GOMES et al., 2019).

A Companhia Mercantil e Indústria Ingá era uma indústria de zinco localizada no estado do Rio de Janeiro, estava há cerca de 15 anos desativada e ainda assim

transformou-se na maior área de contaminação de lixo tóxico do Brasil. Devido a falta de manutenção nos diques construídos para conter a água contaminada, vários terrenos próximos a localidade em que a indústria está situada foram inundadas por metais pesados como zinco, cádmio, mercúrio e chumbo, contaminando o solo, a água e a vegetação do mangue. A área foi arrematada pela Usiminas e passou por processo de descontaminação. Outro caso aconteceu no ano de 1999, em Bauru (SP). A indústria de Acumuladores Ajax era uma das maiores fabricantes de baterias automotivas do Brasil, expeliu chumbo pelas suas chaminés e contaminou 113 crianças, onde foram encontrados índices superiores a 10 miligramas/decilitro (AVILA-CAMPOS, 2022).

Ao longo das últimas décadas, muitas tecnologias de remediação foram desenvolvidas e aplicadas para tratar solos contaminados por metais pesados, entre elas estão a lavagem do solo, enriquecimento de plantas para fitorremediação, dessorção térmica e remediação eletrocínica (WEN; FU e LI, 2021).

A biorremediação é uma tecnologia de remediação utilizada para limpar o ambiente poluído através da transformação de enzimas durante a biossorção de diferentes metais tóxicos (SHARMA; KUMAR, 2021). Todavia, a biorremediação de metais pesados tem limitações, como a produção de metabólitos tóxicos por micróbios e não biodegradabilidade desses metais pesados. Diversos fatores como pH, estado nutricional, umidade e composição química dos metais influenciam e limitam na eficiência da biorremediação. A utilização de microrganismos sozinhos demonstra uma eficiência limitada devido a fatores de baixa competitividade e grandes concentrações de metais pesados. Uma solução alternativa em potencial para a remediação de solos contaminados por metais consiste no uso de biossurfactantes (IGIRI et al., 2018).

Os biossurfactantes possuem vantagens inquestionáveis uma vez que os microrganismos capazes de produzir compostos surfactantes não precisam ter capacidade de sobrevivência no solo contaminado pelo metal pesado, os biossurfactantes possibilitam a solubilização, dispersão e dessorção dos contaminantes do solo, permitindo ainda sua reutilização (SARUBBO et al., 2018).

3.2 Biossurfactantes

Os surfactantes constituem uma classe de compostos químicos utilizados em diversos setores industriais. Esses compostos são formados por estruturas moleculares contendo porções hidrofílicas e hidrofóbicas que tendem a se distribuir nas interfaces entre fases fluidas com diferentes graus de polaridade (óleo/água) (CHAPRÃO et al., 2018; AKBARI et al., 2018), promovendo a redução da tensão superficial e interfacial, conferindo a capacidade de detergência, emulsificação, lubrificação, solubilização e dispersão de fases (ROCHA E SILVA et al., 2018; RIBEIRO et al., 2020).

A utilização dos surfactantes se concentra nas indústrias de produtos de limpeza (sabões e detergentes), petróleo, cosméticos e produtos de higiene. A produção mundial de surfactantes excede três milhões de toneladas por ano, sendo a maioria utilizada como matéria-prima para fabricação de detergentes para uso doméstico (SANTOS et al., 2016). Alguns exemplos de surfactantes iônicos utilizados comercialmente incluem ésteres sulfatados ou sulfatos de ácidos graxos (aniônicos) e sais de amônio quaternário (catiônico) (OLASANMI, THRING, 2018).

Em função de sua natureza anfipática, os surfactantes podem ser adicionados em soluções, facilitando a solubilização, dispersão e dessorção dos contaminantes do solo, permitindo ainda sua reutilização (SILVA et al., 2018). Vários surfactantes sintéticos têm sido avaliados em testes de descontaminação (GEETHA, BANAT, JOSHI, 2018). Por outro lado, a necessidade de substituição de compostos sintéticos por similares naturais tem motivado pesquisas para utilização de surfactantes de natureza microbiológica, os chamados biossurfactantes ou biodetergentes.

3.2.1 Propriedades

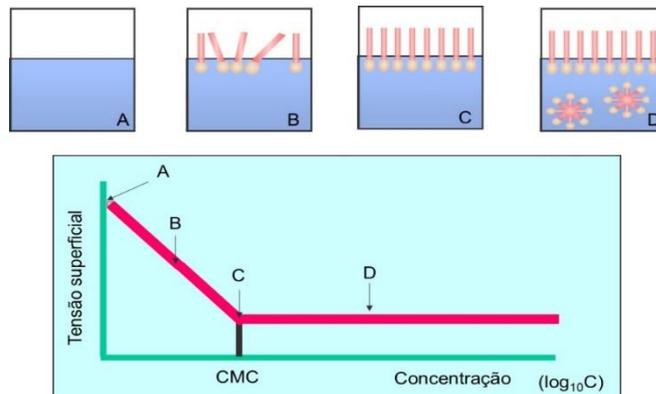
A propriedade de maior importância para os agentes surfactantes é a tensão superficial, que é a força de atração existente entre as moléculas dos líquidos (WILLIAMS; TRINDADE, 2017; SANTOS et al., 2016).

Define-se como superfície o limite entre um líquido e o ar e como interface o limite entre dois líquidos. Dessa forma, as tensões existentes entre as fases ar/água e óleo/água são conhecidas como tensão superficial e tensão interfacial, respectivamente (BANAT, 2014; BEZERRA et al., 2018).

A tensão superficial é facilmente medida quantitativamente por um tensiômetro. Esta medição é a base da maior parte das avaliações iniciais para identificar a presença de um surfactante no meio. A tensão superficial ar/água para a água destilada é de aproximadamente 72 mN/m e a tensão interfacial para a água destilada contra n-hexadecano é de aproximadamente 40 mN/m. Tipicamente, surfactantes podem diminuir esses valores para cerca de 30-40 mN/m e 1 mN/m, respectivamente (MARCHANT; BANAT, 2012).

A tensão superficial diminui quando a concentração de surfactante no meio aquoso aumenta, ocorrendo a formação de micelas, que são moléculas anfipáticas agregadas com as porções hidrofílicas posicionadas para a parte externa da molécula e as porções hidrofóbicas para a parte interna. A concentração dessas micelas forma a Concentração Micelar Crítica (CMC) (Figura 1). Esta concentração corresponde à mínima concentração de surfactante necessária para que a tensão superficial seja reduzida ao máximo. Quando a CMC é atingida, várias micelas são formadas (RIBEIRO et al., 2020).

Figura 1 – Formação de micelas na Concentração Micelar Crítica (CMC)



Fonte: Santos et al. 2016.

Uma emulsão é formada quando uma fase líquida é dispersa como gotículas microscópicas em outra fase líquida contínua. Dois tipos de emulsões podem ser formadas: água-em-óleo (a/o) (surfactante mais solúvel em óleo) e óleo-em-água (o/a) (surfactante mais solúvel em água).

A estabilidade de uma emulsão depende de muitos fatores, incluindo o tamanho das gotículas dispersas, que é favorecida através da redução da tensão interfacial. A presença de emulsificantes e de desemulsificantes estabiliza ou desestabiliza as emulsões, respectivamente (DELL'ANNO et al., 2018).

A capacidade emulsificante é analisada pela habilidade do surfactante em gerar turbidez devido à suspensão de hidrocarbonetos, como n-hexadecano, em um sistema aquoso em análise, enquanto que a capacidade de desemulsificação é geralmente avaliada pelo efeito do agente de-emulsionante sobre emulsões normais preparadas com agentes tensoativos sintéticos (HAQ et al., 2017).

As propriedades físicas e químicas dos biossurfactantes descritas acima, como redução da tensão superficial, capacidade espumante, capacidade emulsificante e estabilizante, concentrações micelares críticas baixas, solubilidade e poder detergente são muito importantes na avaliação de seu desempenho e na seleção de micro-organismos com potencial de produção destes agentes (HELD, 2014; ROCHA E SILVA et al., 2018).

3.2.2 Classificação

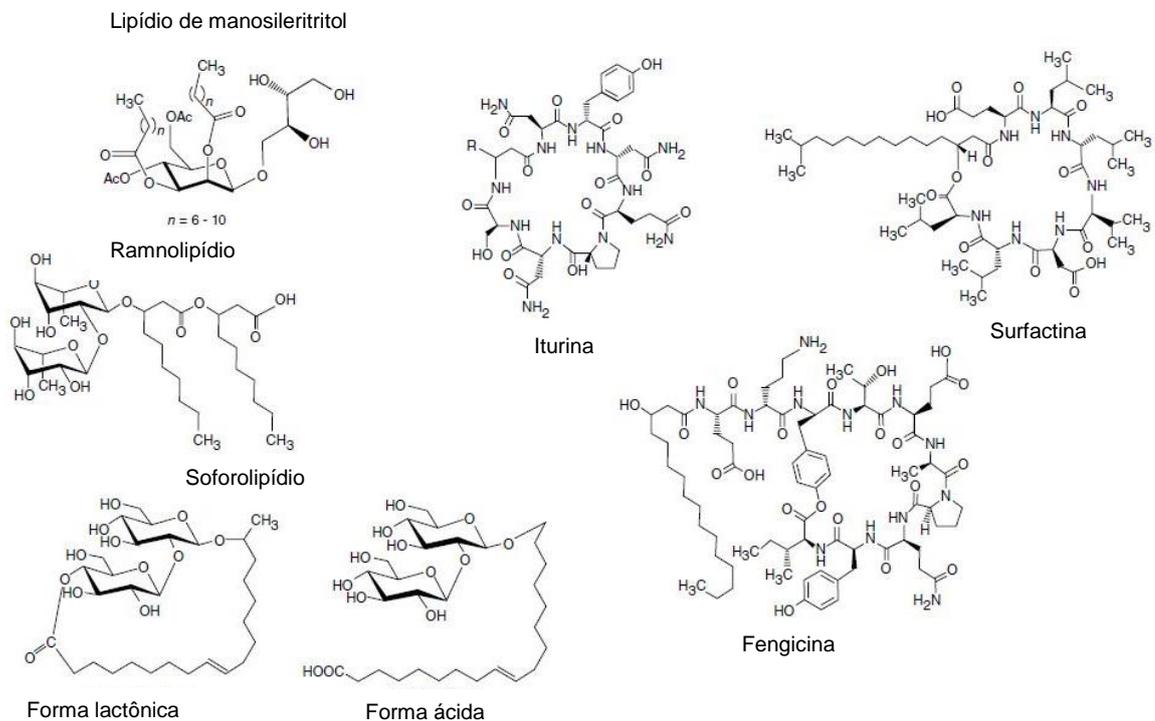
Os biossurfactantes são classificados de acordo com sua origem microbiana, são produzidos naturalmente a partir de bactérias principalmente dos gêneros *Pseudomonas*, *Bacillus* e *Acinetobacter*; fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Fusarium*; leveduras dos gêneros *Candida* e *Pseudozyma* e alguns organismos vivos como plantas (saponinas). Sua composição e variedade de estruturas químicas os levam a propriedades multifuncionais, como solubilização, detergência, lubrificação e tem a capacidade de estabilizar e formar espuma. A parte hidrofílica polar é composta por açúcares, aminoácidos, peptídeos, proteínas ou ácido carboxílico. Sua parte hidrofóbica poder conter ácidos graxos saturados, insaturados, hidroxilados ou álcoois gordurosos. Essas moléculas anfifílicas são divididas em duas grandes classes com base em seu peso molecular: baixo peso molecular e alto peso molecular (JAHAN, 2020; FENIBO; DOUGLAS; STANLEY, 2019).

Os biossurfactantes de baixo peso molecular são mais eficazes em relação a redução da tensão superficial na interface ar/água e tensão interfacial óleo/água, já os de maior peso molecular, conhecidos como bioemulsificantes são os mais efetivamente utilizados em estabilização de emulsões óleo em água (DRAKONTIS; AMIN, 2020).

De maneira geral, existem diferentes abordagens para classificar biossurfactantes microbianos. Além da possibilidade de diferenciar moléculas por tamanho, conduzindo a uma classificação de biossurfactantes de baixo peso molecular como os glicolipídeos, e os biossurfactantes de alto peso molecular, como os lipopolissacarídeos, outra classificação comum, principalmente relacionados a biossurfactantes de baixo peso molecular, é por carga líquida, que permite diferenciar os biossurfactantes iônicos, aniônicos, catiônicos e anfotéricos. Devido à vasta diversidade estrutural dos biossurfactantes, outro método de classificação poder ser realizado categorizando de acordo com a composição estrutural, tais como glicolipídeos, lipopeptídeos e proteínas (HENKEL; HAUSMANN, 2019).

As principais classes de biossurfactantes incluem glicolipídeos, lipopeptídeos/lipoproteínas, fosfolipídeos/ácidos graxos, surfactantes poliméricos e particulados (Figura 2). Os grupos glicolipídeo e lipopeptídeo são os mais conhecidos. No grupo dos glicolipídeos, os ramnolipídios (RMLs), soforolipídios (SPLs) e manosileritritol lipídios (MELs) são os mais comuns, enquanto no grupo dos lipopeptídeos, a surfactina é o mais popular (MARCELINO, 2020).

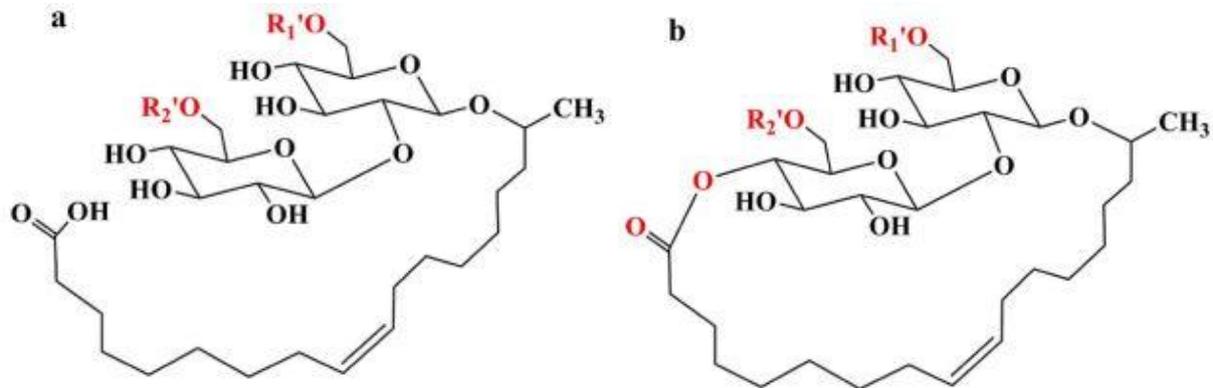
Figura 2 - Estruturas das principais classes de biossurfactantes



Fonte: Marcelino (2020).

Os biossurfactantes produzidos por microrganismos (bactérias, leveduras e fungos filamentosos) são geralmente classificados de acordo com sua composição química. Para a produção dos biossurfactantes, são usadas fontes de carbono e nitrogênio no meio de cultura, onde as principais fontes de carbono são carboidratos e lipídeos (MARCELINO, 2020; ALWAELY; GHADBAN; ALRUBAYAE, 2019).

Possuindo propriedades gerais de surfactantes químicos, como solubilidade, capacidade de emulsificação, saponificação, dispersar e reduzir a tensão superficial, os biossurfactantes sofrólipídios (SLs) tem sido utilizado para remediação de solos, em petróleo, nos setores de alimentos, cosméticos, detergentes e farmacêuticos. Os SLs são compostos de uma sofróse hidrofílica e um ácido graxo hidrofóbico, e abrigam uma ampla diversidade estrutural (Figura 3). A *Candida bombicola* é uma cepa produtora de SL promissora (LI et al., 2020; LIN et al., 2019).

Figura 3 - Estruturas dos sofrorolípídeos produzidos por *C. bombicola*

*SLs produzidos por *Candida bombicola*. SLs de forma ácida (A); SLs de forma lactônica (B). R₁, R₂ = –OH, não acetilado; R₁ = –OH, R₂ = –OCH₃, mono-acetilado; R₁, R₂ = –OCH₃, di-acetilado.

Fonte: LI et al. (2020); LIN et al. (2019).

3.3 Microrganismos Produtores de Biossurfactantes

Os biossurfactantes são uma classe natural de moléculas ativas de superfície com uma variedade de estruturas que são produzidas por diferentes microrganismos (SOUZA et al., 2017). Bactérias, fungos filamentosos e leveduras são os microrganismos geralmente usados para a produção de biossurfactantes. Os microrganismos produzem biossurfactantes para melhorar a mobilidade celular, fornecer acesso a nutrientes ou facilitar o crescimento no meio ambiente (AHMADI-ASHTIANI, 2020).

Os microrganismos que são capazes de produzir biossurfactantes são abundantes, podem ser encontrados em locais ecológicos como terra, em solos poluídos, sedimentos e lamas; em corpos d'água, em águas doces, subterrâneas e no mar; como também em alguns ambientes extremos, como é o caso de reservatórios de petróleo, onde os microrganismos são capazes de crescer em uma extensa gama de temperaturas, valores de pH e salinidade. As leveduras tem provado sua proficiência

para produção de biossurfactantes, mesmo sendo isoladas de diferentes fontes, elas tem capacidade de produzir biossurfactante em quantidade maiores do que as bactérias, as leveduras do gênero *Candida* são muito conhecidas por serem produtoras de biossurfactantes, como são o caso das espécies *C. albicans*, *C. antarctica*, *C. bombicola*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. lipolytica*, *C. sphaerica*, *C. tropicalis*, *C. utilis* (LIRA et al., 2020; RIBEIRO; GUERRA; SARUBBO, 2020; NWAGUMA; CHIKERE; OKPOKWASILI, 2019).

De acordo com Fenibo; Douglas e Stanley (2019), alguns microrganismos se destacam para produção de biossurfactantes, entre as bactérias, gêneros de *Pseudomonas*, *Bacillus* e *Acinetobacter* dominam o espaço da literatura, entre as leveduras, os gêneros *Torulopsis*, *Pseudozyma*, *Saccharomyces*, *Rhodotorula* e *Kluyveromyces* se destacam, e para os fungos, gêneros de *Aspergillus*, *Ustilago*, *Fusarium*, *Trichoderma* e *Penicillium* são bastante relatados em pesquisas.

Uma das grandes vantagens de utilizar leveduras para produção de biossurfactantes está no status GRAS (geralmente considerado seguro), ou seja, algumas das espécies não possuem patogenicidade e risco de toxicidade, como é o caso das *Yarrowia lipolytica*, *Saccharomyces cerevisiae* e *Kluyveromyces lactis*. Vários fatores são capazes de afetar a produção de biossurfactantes por microrganismos, é o caso do tamanho do inóculo, pH, temperatura, fonte de nutrientes, relação carbono-nitrogênio, íons metálicos, velocidade de agitação, e outros fatores. Dentro todos os fatores citados, as fontes de carbono e nitrogênio são as mais críticas. A influência da fonte de carbono na produção de biossurfactantes por diferentes cepas de microrganismos desempenha um papel importante na sobrevivência dos microrganismos produtores, devido ao aumento da solubilidade dos compostos insolúveis em água, facilitando o transporte para a célula, participam também de processos de adesão e agregação celular, formação de biofilme e defesa contra outros microrganismos. A fonte de nitrogênio é um fator indispensável que atua na regulação de rendimento e a eficiência de produção do biossurfactante (BRAVO et al., 2020; EZEBUIRO et al., 2019)

3.4 Produção de biossurfactantes a partir de resíduos industriais

Ao longo da última década, uma grande variedade de materiais residuais de baixo custo foram explorados como substratos para produção de biossurfactantes, esta é uma estratégia de corte de custos eficaz, e também de gerenciamento de resíduos. Uma série de resíduos industriais renováveis e de baixo custo pode ser utilizados na produção do biossurfactante, entre eles, se destacam os resíduos de alimentos e os agroindustriais (Tabela 1). Os processos de transformação são mediados, em parte por leveduras, bactérias e fungos filamentosos cujas características metabólicas os tornam adequados para a síntese de moléculas de alto valor agregado a partir de resíduos agroindustriais (DURÁN; REYES; DURÁN, 2020).

Tabela 1 - Diferentes substratos residuais de baixo custo explorados para produção de biossurfactante

Resíduos	Referências
Óleos de palma, de soja, de côco, de algodão, de amendoim, azeite de oliva	ZAMBRY et al., 2021; DURVAL et al., 2019; SURYAWANSHI et al., 2021; SILVA et al. 2021; SILVA SANTOS et al. 2021; SOUZA et al., 2018
Resíduos de matadouro, processamento de peixes, gordura animal	RAMANI et al., 2012; PATIL et al., 2016; SELLAMI et al., 2021
Gordura vegetal	GUSMÃO et al., 2010; ALMEIDA et al., 2015
Soro de leite	ALKAN et al., 2019; VERA et al., 2018
Borra	SANTOS et al., 2013; 2014
Cascas de laranja, abacaxi, banana, cenoura, maçã, arroz, batata e bagaço de cana	VIEIRA et al., 2021; RAJASIMMAN et al., 2021; DAS e KUMAR, 2019; SURYAWANSHI et al., 2021; MOHANTY et al., 2021.
Melaço	SARUBBO et al. 2018; LIRA et al., 2020; OSTENDORF et al., 2019; KANNA, 2018; ALMEIDA et al., 2018

Milhocina	SARUBBO et al., 2018; LIRA et al., 2020; OSTENDORF et al., 2019; KANNA, 2018; ALMEIDA et al., 2018
Farinha de mandioca	RAJASIMMAN et al., 2021
Resíduos de destilaria de petróleo	LUNA et al., 2011; 2013
Glicerol	MOSHTAGH; HAWBOLDT e ZHANG, 2021

Quando os resíduos agroindustriais são descartados de forma incorreta, causam um grande impacto para o ambiente e para o bem estar da humanidade. Então, uma estratégia interessante para reduzir tais impactos é a utilização desses resíduos agroindustriais em processos biotecnológicos, como a produção de meios de cultura devido a sua rica quantidade de matéria orgânica, que contém macronutrientes (proteínas e carboidratos), e, micronutrientes (minerais) que são essenciais para o crescimento de microrganismos (ZANOTTO, 2019). As fontes de lipídios e de carbono que estão presentes nos resíduos agroindustriais, são um dos principais requisitos para o crescimento de microrganismos e produção de biossurfactante (KUMAR et al., 2020).

Diferentes produtos agrícolas como a palha de cana-de-açúcar, melaço, trigo, palha de arroz, farelo, melaço de beterraba, arroz, bagaço de cana-de-açúcar, casca de soja, milho, farinha de mandioca e suas água residuais são resíduos agroindustriais e bons substratos para a produção de biossurfactantes, onde os carboidratos e lipídios são obtidos a partir dessas fontes, portanto, são necessários para o crescimento dos microrganismos e produção dos biossurfactantes. Os microrganismos utilizam uma grande variedade de hidrocarbonetos, compostos orgânicos, misturas hidrofóbicas e compostos químicos como fonte de carbono e energia, desta maneira, os biossurfactantes aumentam a solubilização desses compostos em uma concentração que aumenta a sua biodisponibilidade, absorção microbiana e utilização (JIMOH; LIN, 2019; PATOWARY, 2017).

Entre as fontes renováveis de baixo custo e acessível para a síntese de biossurfactantes estão os resíduos produzidos nas indústrias de processamento de petróleo, este material são fontes de carbono e energia para a síntese de biomoléculas tensoativas (JIMOH; LIN, 2019).

Para escolher um bom resíduo agroindustrial para produção de biossurfactantes é necessário considerar várias situações básicas, como a disponibilidade do material e custos relacionados a transporte; minimizar ou evitar etapas de pré-tratamento para não haver adição extra de matéria prima refinada ao meio de produção, o uso de resíduos agroindustriais e substratos renováveis e de baixo custo pode levar a uma redução expressiva dos custos operacionais envolvidos no processo de produção de biossurfactantes (RIVERA; URBINA; LÓPEZ, 2019). A disponibilidade e o tipo de matéria-prima podem contribuir expressivamente para o custo de produção. É estimado que as matérias-primas respondam por 10 - 30 % do custo total de um produto biotecnológico e a purificação seja responsável por 60 % do custo total de produção, todavia, o custo de purificação pode ser evitado se o biossurfactante for aplicado em sua forma bruta (ALMEIDA, 2019).

3.5 Aplicações Ambientais

Devido a sua diversidade estrutural e propriedades funcionais, os biossurfactantes desempenham papéis de grande importância em aplicações ambientais. Tecnologias de remediação utilizando biossurfactantes e microrganismos produtores ajudam a limpar hidrocarbonetos e metais pesados de áreas poluídas (JAHAN et al., 2020).

3.5.1 Biorremediação

Várias estratégias de remediação envolvendo atividades biológicas, químicas e físicas foram desenvolvidas ao longo dos anos. Devido aos avanços relacionados às tecnologias sustentáveis, a exploração de métodos naturais aumentou em relação à contaminação de hidrocarboneto da água e do solo. A biorremediação é um processo que envolve a ação de microrganismos e suas respectivas enzimas para degradar os contaminantes do local contaminado, onde bactérias, fungos filamentosos e leveduras são isolados do local poluído e utilizados para limpar o solo e água contaminados. Muitos desses microrganismos isolados do local contaminado produzem

biossurfactantes, e estes aprisionam os metais pesados e hidrocarbonetos e os degradam em produtos que podem ser usados pelo ambiente (SINGH et al., 2020). Seus produtos finais são substâncias ecologicamente corretas como dióxido de carbono, ácidos graxos, água ou biomassa celular.

A biorremediação é uma estratégia emergente para limpar ambientes contaminados com petróleo, o óleo fóssil é constituído por uma mistura sofisticada de hidrocarbonetos de pesos moleculares variados e compostos líquidos alternativos. Os hidrocarbonetos de óleo fóssil são principalmente alcanos, cicloalcanos e numerosos carbonetos aromáticos, enquanto os outros compostos são metais variados como ferro, níquel, cobre e outros. A composição molecular dos hidrocarbonetos pode variar. Quimicamente o óleo fóssil contém parafina (15 - 60 %), hidrocarbonetos (30 – 60 %), aromáticos (3 – 30 %), e, minerais (6 %). Os microrganismos amplamente utilizados para remediação de derramamento de óleo, diesel e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos pertencem aos gêneros *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhodococcus*, *Candida*, *Lactobacillus*, *Arthobacter* e *Acinetobacter* (TRUDGEON, 2020; BORAH, 2018).

A biorremediação de derramamento de óleo melhorada com biossurfactante é uma abordagem atrativa de mitigação de derramamento, todavia, vale salientar que os biossurfactantes e as culturas microbianas precisam ser sinérgicos para a máxima biodegradabilidade dos óleos. As características físico-químicas dos óleos variam de óleo para óleo, o que decide sua taxa de degradação. Os óleos podem ser uma mistura de complexa de compostos alifáticos e aromáticos em proporções que variam. Os alcanos podem ser hexanos, decano, tetradecano, hexadecano, e entre outros, enquanto os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos pode ser benzeno, naftaleno, fenantreno, pireno e benzopireno. Os microrganismos tem a capacidade de degradar os alcanos e aromáticos em ácidos graxos voláteis sob condições anaeróbicas (PATEL, 2019). Os biossurfactantes alcançaram um potencial interesse para aplicações ambientais na remediação de contaminantes orgânicos e inorgânicos, particularmente na remoção de metais pesados do solo e da água (AKBARI et al., 2018).

3.5.2 Aplicação na limpeza de reservatórios de óleos

As indústrias petrolíferas geram aproximadamente 28.220 toneladas por ano de borra de óleo no fundo dos tanques. Esse lodo oleoso é um dos principais resíduos gerados durante a exploração, transporte e refino de petróleo. A composição da lama oleosa contém petróleo bruto envelhecido, incluindo hidrocarbonetos saturados, hidrocarbonetos aromáticos asfalteno, colóide, metais pesados como Ni, Cr, Zn, Mn, Cd e Cu, além de outras substâncias nocivas. A lama oleosa é considerada um resíduo perigoso pela ameaça que representa ao ambiente, e, para a saúde humana se manuseado de maneira incorreta (REN et al., 2020; SUGANTHI et al., 2018).

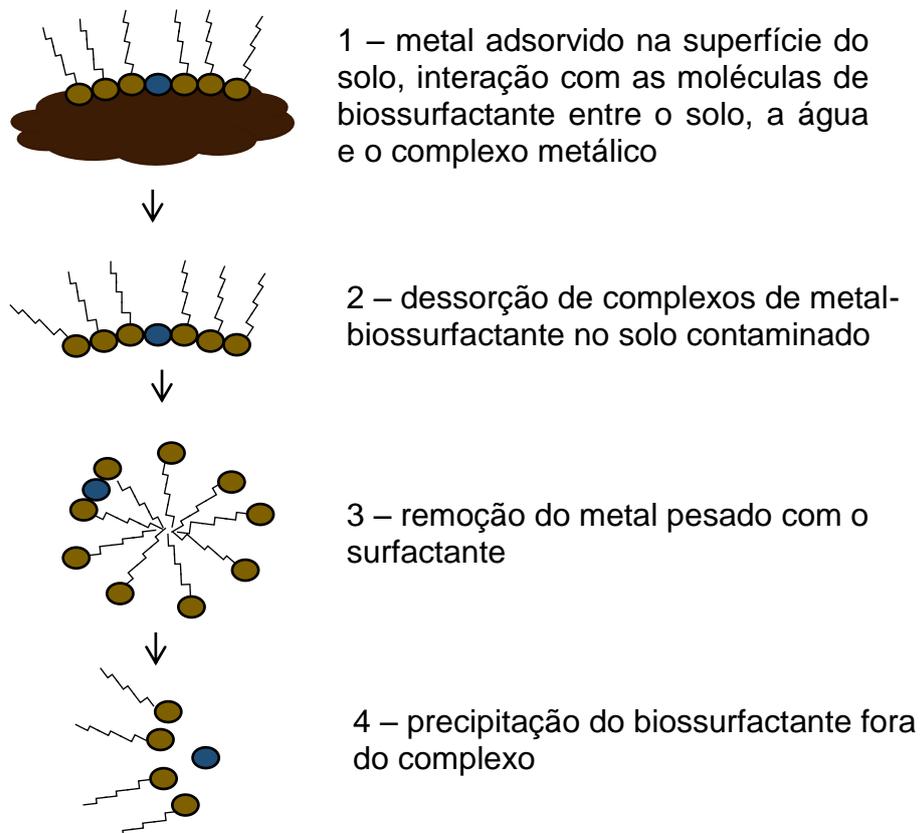
Os biossurfactantes são utilizados para limpar tanques de óleo, tanques contaminados com óleo, barcaças, tanques de armazenamento, vagões tanque e caminhões, oleodutos e contêineres utilizados para transportar ou armazenar petróleo bruto ou frações de petróleo. O óleo flutua e permanece como fase distinta, então, para a limpeza, os monômeros dos biossurfactantes podem se acumulam na interface sólido-óleo e reduzem a força capilar segurando o óleo e o sólido devido à redução na tensão superficial. Então, o óleo sofre um deslocamento se a tensão superficial entre óleo-sólido for altamente reduzida para superar a força capilar (AL-TAMIMI, 2019).

3.5.3 Aplicações na remoção de metais pesados

Ao longo dos anos, a modernização e industrialização conduziram à contaminação de solos e água, os poluentes ambientais mais comuns são metais pesados e hidrocarbonetos (MAKOMBE; GWISAI, 2018). O aumento da carga de contaminação por metais pesados tem causado uma deterioração severa para o ambiente. Entre as diversas contaminações por metais pesados, a presença de arsênio (As), cádmio (Cd), cobre (Cu), cromo (Cr), mercúrio (Hg), chumbo (Pb), zinco (Zn) e níquel (Ni) no ambiente é bastante preocupante pois são toxinas não limiaries e se encontram presente nos sistemas aéreos, aquáticos e terrestres muitas vezes em concentrações acima do estabelecido pelas agências internacionais. E, podem causar muitos problemas de saúde categorizados como perigos químicos inorgânicos para humanos, animais e plantas (RAHMAN; SINGH, 2020; AKBARI et al., 2018).

Comparado com surfactantes químicos, os biossurfactantes derivados de microrganismos apresentam um melhor desempenho, considerado adequado na remoção de metais pesados de solo contaminado (TANG et al., 2017; LUNA; RUFINO; SARUBBO, 2016). Há três etapas principais envolvidas na remoção de metais pesados do solo através da lavagem com solução de biossurfactante. Os metais pesados adsorvidos na superfície das partículas do solo se separam pela sorção de moléculas de biossurfactantes nas interfaces entre o solo úmido e o metal em solução aquosa. Posteriormente, o metal é adsorvido por biossurfactantes e preso dentro da micela através de interações eletrostáticas. Por fim, o biossurfactante pode ser recuperado através do processo de separação por membranas de acordo com a Figura 4 (GUAN et al., 2017; IBRAHIM; HASSAN; AZAB, 2016).

Figura 4 - Mecanismo de remoção de metais pesados de solo contaminado usando biossurfactantes



Fonte: Adaptado de (AHMAD et al., 2018).

Remover os metais pesados efetivamente do solo é um grande desafio. A lixiviação do biossurfactantes visa principalmente remover metais dos solos através da quelatação de metais com seus respectivos grupos de funções e transformação das frações de especiação dos metais para aumentar a sua mobilidade (YANG et al., 2018).

A literatura relata que a técnica de biorremediação usando biossurfactantes é o melhor método para eliminar metais pesados do solo, mostrando 100% de eficiência. De acordo com Guan et al. (2017), a eficiência de biossurfactantes para remoção de metais pesados de lodos e solos alcançaram taxas de remoção de 90 - 100 % para cobre (Cu), zinco (Zn), cromo (Cr) e cádmio (Cd). Os surfactantes naturais são considerados eficazes no tratamento de solos contaminados com óleos cru e diesel (AKBARI et al., 2018).

De acordo com Sarubbo et al. (2015), biossurfactantes alcançados através de amostras de *Pseudomonas* sp. e *Alcaligenes* sp. foram utilizados na atividade de flotação e separação de formações de minerais de calcita e scheelita, conseguindo percentuais de recuperação em torno de 95% para CaWO_4 (tungstato de cálcio) e de 30% para CaCO_3 , (Carbonato de cálcio) respectivamente, salientando que reagentes químicos convencionais não tem a capacidade de separar estes dois minerais.

Rocha Junior et al. (2019) realizaram testes envolvendo biossurfactante bruto e isolado para remover metais pesados de areia contaminada em condições dinâmicas e estáticas. As taxas de remoção variaram de 30 a 80 % e 45 a 65 % para remoção de Zn e Cu em testes dinâmicos e estáticos, respectivamente. O biossurfactante também se mostrou capaz de remover Pb em condições dinâmicas, com taxa de remoção de 15 %.

Tang et al. (2018) utilizaram uma combinação de ramnolipídios e saponina em um processo de múltiplas lavagens de lodo contaminado com metais, os resultados indicaram que após diversas lavagens as eficiências de remoção de Cu, Zn, Cr, Pb, Ni e Mn foram de 62%, 74 %, 60 %, 15 %, 68 % e 64 %, respectivamente. Posteriormente as lavagens para remoção dos metais o lodo ainda se mostrou adequado para utilização na agricultura.

O biodispersan, biossurfactante de caráter aniônico produzido por *A. calcoaceticus*, foi avaliado quanto a atividade de prevenção da floculação e dispersão de misturas de pedra calcária e água. Os biossurfactantes de *C. bombicola* demonstraram eficiência na solubilização de carvão (SARUBBO et al., 2015).

Luna et al. (2016) realizaram testes de remoção de poluentes orgânicos e obtiveram como resultado taxas de remoção de 95, 90 e 79% para Fe, Zn e Pb, respectivamente, utilizando o biossurfactante produzido pela levedura *Candida sphaerica*.

Segundo Jacob et al. (2018), microrganismos dos gêneros *Bacillus* e *Pseudomonas* têm sido amplamente utilizados para a remoção de metais pesados de efluentes e solos devido à sua alta afinidade de ligação aos metais, esses microrganismos tem a capacidade de absorver uma quantidade substancial de íons metálicos, resultando na transferência de metais para uma matriz de biomassa contaminada.

3.6 Utilização Industrial de Biossurfactantes

Baixa toxicidade, boa biodegradabilidade e bioatividade específica fornecem biossurfactantes com grande potencial para aplicações práticas, em particular nas áreas de cosméticos, saúde e indústrias alimentícias (LIU et al., 2020).

Os biossurfactantes possuem uma vasta gama de aplicações em diferentes setores, como cosméticos, farmacêuticos, alimentícios, petróleo, águas residuais, agricultura, têxteis, pintura e diversos outros setores. Esses compostos são conhecidos como agentes multifuncionais, incluindo agentes estabilizadores, umectantes, antimicrobianos, hidratantes, emulsificantes e antiadesivos (AKBARI et al., 2018). A Tabela 2 demonstra algumas aplicações de biossurfactantes em processos industriais.

Tabela 2 - Aplicações de biossurfactantes em diferentes indústrias

Indústrias	Aplicações	Referências
Farmacêutica/Cosméticos	Lavagem corporal, produtos para o cabelo, loções, sombra para os olhos, tratamento para acne, coloração labial, desodorantes, produtos anti-rugas, suavização da pele, agente antimicrobiano, agente antifúngico, agentes anti-adesivos, agente anticâncer, agente antiviral, agentes espumantes.	ROY, (2017); VECINO et al. (2017); AMBAYE et al. (2021)
Alimentícia	Agentes emulsificantes, agente antiadesivo, agente antimicrobiano, preservação de alimentos.	RIBEIRO; GUERRA e SARUBBO et al. (2020); PARTHASARATHI e SUBHA (2018)
Petróleo	Emulsionante, demulsificante, intensificador de recuperação de óleo, assistente de transporte.	AMBAYE et al. (2021); FENIBO et al. (2019)
Tratamento de água residual	Agente biocompósito, agente de remoção de metais pesados, bioabsorvente.	SINGH; PATIL e RALE (2019); AMBAYE et al. (2021)
Têxtil	Lubrificante, agente de limpeza, agente de nivelamento, assistente de branqueamento.	RAWAT; DHASMANA e KUMAR (2020)
Agricultura	Agente de remediação de solo, fungicidas, bactericidas, pesticidas, remoção de metais pesados, agente de remoção de doenças de plantas, colonização de raízes.	KUMAR et al. (2021)

REFERÊNCIAS

AHMADI-ASHTIANI, H. et al. Microbial Biosurfactants as Key Multifunctional Ingredients for Sustainable Cosmetics. **Cosmetics**, v. 7, n. 2, p. 46, 2020.

AKBARI, S. et al. Biosurfactants—a new frontier for social and environmental safety: a mini review. **Biotechnology Research and Innovation**, v. 2, n. 1, p. 81-90, 2018.

ALMEIDA, D. et al. Application of a biosurfactant from *Candida tropicalis* UCP 0996 produced in low-cost substrates for hydrophobic contaminants removal. **Chemical Engineering Transactions**, v. 64, p. 541-546, 2018.

ALMEIDA, D.G.; SILVA, R.C.F.S.; LUNA, J.M. et al. Biosurfactants: Promising Molecules for Petroleum Biotechnology Advances, **Frontiers in Microbiology**, v.7, n.1, p.17-18, 2016.

ALMEIDA, D. G. et al. Production, formulation and cost estimation of a commercial biosurfactant. **Biodegradation**, v. 30, n. 4, p. 191-201, 2019.

ALMEIDA, F.C.G. et al. Optimization and evaluation of biosurfactant produced by *Pantoea* sp. Using pineapple peel residue, vegetable fat and corn steep liquor. **J. Chem. Eng.**, v.9, n. 2015, p. 269-279, 2015.

ALKAN, Z. et al. Production of biosurfactant by lactic acid bacteria using whey as growth medium. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, v. 43, n. 5, p. 676-683, 2019.

ALWAEELY, W.A.S.; GHADBAN, A.K.; ALRUBAYAE, I.M.N. Production and properties of biosurfactant from the local isolation of *Candida* spp. **Drug Invention Today**, v. 12, n. 5, 2019.

AL-TAMIMI, W.H. et al. Improved oil recovery by using biosurfactant produced from *Bacillus* bacteria isolated from oil reservoir in Iraq. **Poll Res**, v. 38, n. 3, p. 551-556, 2019.

AMBAYE, T.G. et al. Preparation, characterization and application of biosurfactant in various industries: A critical review on progress, challenges and perspectives. **Environmental Technology & Innovation**, v. 24, p. 102090, 2021.

AVILA-CAMPOS, M.J. Metais Pesados: Um Perigo Eminente. Departamento de Microbiologia, Universidade de São Paulo. Disponível em: <http://www.icb.usp.br/bmm/mariojac/index.php?option=com_content&view=article&catid=13%3Atemas-de-interesse&id=33%3Ametais-pesados-um-perigo-eminente&lang=br>. Acesso em: 19 Jan 2022.

Silva, R.R. Produção de biosurfactante e aplicação na remediação de ambientes cont...

BANAT, I. M.; DE RIENZO, M. A. D; QUINN, G. A. Microbial biofilms: biosurfactants as antibiofilm agents. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 98, n. 24, p. 9915-9929, 2014.

BEZERRA, K.G.O. et al. Saponins and microbial biosurfactants: Potential raw materials for the formulation of cosmetics. **Biotechnology progress**, v. 34, n. 6, p. 1482-1493, 2018.

BORAH, D. Microbial bioremediation of petroleum hydrocarbon: An overview. In: **Microbial Action on Hydrocarbons**. Springer, Singapore, 2018. p. 321-341

BRAVO, C.E.C. et al. Multivariate selection of nutrient parameters in submerged culture of *kluyveromyces marxianus* for biosurfactant production/Seleção multivariada de parâmetros nutricionais em cultivo submerso de *kluyveromyces marxianus* para produção de biosurfactante. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 3, p. 10842-10854, 2020.

CHAPRÃO, M.J. et al. Formulation and application of a biosurfactant fro *Bacillus methylotrophicus* as collector in the flotation of oily water in industrial environment. **Journal of biotechnology**, v. 285, p.15-22, 2018.

DAS, A.J.; KUMAR, R. Production of biosurfactant from agro-industrial waste by *Bacillus safensis* J2 and exploring its oil recovery efficiency and role in restoration of diesel contaminated soil. **Environmental Technology & Innovation**, v. 16, p. 100450, 2019.

DRAKONTIS, C. E.; AMIN, S. Biosurfactants: Formulations, Properties, and Applications. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v.48, p. 77-90, 2020.

DELL'ANNO, F. et al. Biosurfactant-induced remediation of contaminated marine sediments: Current knowledge and future perspectives. **Marine environmental research**, v. 137, p. 196-205, 2018.

DURÁN, S. M.; REYES, L. P.; DURÁN, A.S. Evaluation of agro-industrial residues produced in Costa Rica for a low-cost culture medium using *Bacillus subtilis* 168. **Revista Tecnología en Marcha**, p. ág. 15-25, 2020.

DURVAL, I.J.B. et al. Studies on biosurfactants produced using *Bacillus cereus* isolated from seawater with biotechnological potential for marine oil-spill bioremediation. **Journal of Surfactants and Detergents**, v. 22, n. 2, p. 349-363, 2019.

EZEBUIRO, V. et al. Effects of Nitrogen and Carbon Sources on Biosurfactant Production by Hydrocarbon-utilizing *Stenotrophomonas* sp. **Microbiology Research Journal International**, p. 1-10, 2019.

FENIBO, E.O.; DOUGLAS, S.I.; STANLEY, H.O. A review on microbial surfactants: production, classifications, properties and characterization. **Journal of Advances in Microbiology**, v.18, n.3, p. 1-22, 2019.

Silva, R.R. Produção de biossurfactante e aplicação na remediação de ambientes cont...

FENIBO, E.O. et al. Microbial surfactants: The next generation multifunctional biomolecules for applications in the petroleum industry and its associated environmental remediation. **Microorganisms**, v. 7, n. 11, p. 581, 2019.

GAUR, V.K. et al. Opportunities and challenges in omics approaches for biosurfactant production and feasibility of site remediation: Strategies and advancements. **Environmental Technology & Innovation**, v. 25, p. 102132, 2022.

GEETHA, S.J.; BANAT, I.M.; JOSHI, S.J. Biosurfactants: Production and potential applications in microbial enhanced oil recovery (MEOR), **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v.14, n.1, p.23-32, 2018.

GOMES, C.H. et al. Geochemistry water of the Camaquã das Lavras and Hilário streams, Lavras do Sul-RS: anthropogenic or natural?. **Revista Ambiente & Água**, v. 15, 2020.

GOMES, C. et al. Water Quality Assessment through PCA Analysis. **International Journal of Advanced Engineering Research and Science**, v. 6, n. 3, p. 202-210, 2019.

GUAN, R. et al. Functionality of surfactants in waste-activated sludge treatment: a review. **Science of the Total Environment**, v. 609, p. 1433-1442, 2017.

GUSMÃO, C.A.B.; RUFINO, R.D.; SARUBBO, L.A. Laboratory production and characterization of a new biosurfactant from *Candida glabrata* UCP1002 cultivated in vegetable fat waste applied to the removal of hydrophobic contaminant. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 26, n.9, p. 1683-1692, 2010.

HAQ, Z.U.I et al. Physico-chemical properties of cationic surfactant cetyltrimethylammonium bromide in the presence of electrolyte. **Journal of Materials**, v. 8, n. 3, p. 1029-1038, 2017.

HELD, P. Rapid critical micelle concentration (CMC) determination using fluorescence polarization. **BioTek Application Note**, 2014.

HENKEL, M.; HAUSMANN, R. Diversity and Classification of Microbial Surfactants. In: **Biobased Surfactants**. AOCS Press, 2ed, p. 41-63, 2019.

IBRAHIM, W.M.; HASSAN, A.F.; AZAB, Y.A. Biosorption of toxic heavy metals from aqueous solution by *Ulva lactuca* activated carbon. **Egyptian journal of basic and applied sciences**, v. 3, n. 3, p. 241-249, 2016.

IGIRI, B.E. et al. Toxicity and bioremediation of heavy metals contaminated ecosystem from tannery wastewater: a review. **Journal of toxicology**, v. 2018, 2018.

JACOB, J. M. et al. Biological approaches to tackle heavy metal pollution: A survey of literature. **Journal of environmental management**, v. 217, p. 56-70, 2018.

Silva, R.R. Produção de biosurfactante e aplicação na remediação de ambientes cont...

JAHAN, R.; BODRATTI, A.M.; TSIANOU, M. et al. Biosurfactants, natural alternatives to synthetic surfactants: Physicochemical properties and applications. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 275, n.1, p. 102061, 2020.

JIMOH, A. Ad.; LIN, J. Biosurfactant: A new frontier for greener technology and environmental sustainability. **Ecotoxicology and Environmental safety**, v. 184, p. 109607, 2019.

KANNA, R. Enhanced and cost-effective biosurfactant production for marine remediation contaminated with oil spill. **International Journal of Civil Engineering and Technology**, v. 9, n. 7, p. 373-381, 2018.

KARLAPUDI, A.P.; VENKATESWARULU, T.C.; TAMMINEEDI, J. et al. Role of biosurfactants in bioremediation of oil pollution-a review, **Petroleum**, v.4, n.1, p. 1-9, 2018.

KARNWAL, A. Biosurfactant Production Using Bioreactors from Industrial Byproducts. **Biosurfactants for a Sustainable Future: Production and Applications in the Environment and Biomedicine**, p. 59-78, 2021.

KUMAR, A. et al. Microbial biosurfactant: a new frontier for sustainable agriculture and pharmaceutical industries. **Antioxidants**, v. 10, n. 9, p. 1472, 2021.

KUMAR, P.S. et al. A Review on New Aspects of Lipopeptide Biosurfactant: Types, Production, Properties and its Application in the Bioremediation Process. **Journal of Hazardous Materials**, p. 124827, 2021.

LI, C. et al. A review on heavy metals contamination in soil: effects, sources, and remediation techniques. **Soil and Sediment Contamination: An International Journal**, v. 28, n. 4, p. 380-394, 2019.

LI, Y. et al. Advances in sophorolipid-producing strain performance improvement and fermentation optimization technology. **Applied Microbiology and Biotechnology**, p. 1-13, 2020.

LIN, Y. et al. Rational high-throughput screening system for high sophorolipids production in *Candida bombicola* by co-utilizing glycerol and glucose capacity. **Bioresources and Bioprocessing**, v. 6, n. 1, p. 17, 2019.

LIRA, I.R.A. da S. et al. Biosurfactant Production from *Candida guilliermondii* and Evaluation of its Toxicity. **Chemical Engineering**, v. 79, 2020.

LIU, K. et al. Rational design, properties, and applications of biosurfactants: a short review of recent advances. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 45, p. 57-67, 2020.

LUNA, J.M. et al. Economic optimized medium for tensio-active agent production by *Candida sphaerica* UCP0995 and application in the removal of hydrophobic

Silva, R.R. Produção de biossurfactante e aplicação na remediação de ambientes cont...

contaminant from sand. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 12, n. 4, p. 2463-2476, 2011.

LUNA, J.M. et al. Characterisation, surface properties and biological activity of a biosurfactant produced from industrial waste by *Candida sphaerica* UCP0995 for application in the petroleum industry. **Colloids and surfaces B: Biointerfaces**, v. 102, p. 202-209, 2013.

LUNA, J.M.; RUFINO, R. D.; SARUBBO, L. A. Biosurfactant from *Candida sphaerica* UCP0995 exhibiting heavy metal remediation properties. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 102, p. 558-566, 2016.

MARCHANT, R.; BANAT, I. M. Microbial biosurfactants: challenges and opportunities for future exploitation. **Trends in Biotechnology**, v. 30, n. 11, p. 558-565, 2012.

MAKOMBE, N.; GWISAI, R.D. Soil remediation practices for hydrocarbon and heavy metal reclamation in mining polluted soils. **The Scientific World Journal**, v. 2018, 2018.

MARCELINO, P.R.F. et al. Sustainable Production of Biosurfactants and Their Applications. **Lignocellulosic Biorefining Technologies**, p. 159-183, 2020.

MASINDI, V.; MUEDI, K.L. Environmental contamination by heavy metals. **Heavy metals**, v. 10, p. 115-132, 2018.

MISHRA, S. et al. Biosurfactant is a powerful tool for the bioremediation of heavy metals from contaminated soils. **Journal of Hazardous Materials**, p. 126253, 2021.

MOHANTY, S.S. et al. A critical review on various feedstocks as sustainable substrates for biosurfactants production: a way towards cleaner production. **Microbial cell factories**, v. 20, n. 1, p. 1-13, 2021.

MOSHTAGH, B.; HAWBOLDT, K.; ZHANG, B. Biosurfactant production by native marine bacteria (*Acinetobacter calcoaceticus* P1-1A) using waste carbon sources: Impact of process conditions. **The Canadian Journal of Chemical Engineering**, v. 99, n. 11, p. 2386-2397, 2021.

NWAGUMA, I. V.; CHIKERE, C. B.; OKPOKWASILI, G. C. Effect of cultural conditions on biosurfactant production by *Candida* sp. isolated from the sap of *Elaeis guineensis*. **Biotechnology Journal International**, p. 1-14, 2019.

OLASANMI, I.; THRING, R. The role of biosurfactants in the continued drive for environmental sustainability. **Sustainability**, v. 10, n. 12, p. 4817, 2018.

OSTENDORF, T.A. et al. Production and formulation of a new low-cost biosurfactant to remediate oil-contaminated seawater. **Journal of biotechnology**, v. 295, p. 71-79, 2019.

Silva, R.R. Produção de biossurfactante e aplicação na remediação de ambientes cont...

PARTHASARATHI, R.; SUBHA, K.S. Prospective biosurfactant applications in food industry-opportunities and challenges. **Int J Curr Res Life Sci**, v. 7, p. 1560-1565, 2018.

PATEL, S. et al. Microbial biosurfactants for oil spill remediation: pitfalls and potentials. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 103, n. 1, p. 27-37, 2019.

PATIL, S. B. et al. Primary screening of actinomycetes in prospects with biosurfactant production from animal fat waste. **Int J Curr Microbiol Appl Sci**, v. 5, n. 2, p. 92-97, 2016.

PATOWARY, K. et al. Characterization of biosurfactant produced during degradation of hydrocarbons using crude oil as sole source of carbon. **Frontiers in microbiology**, v. 8, p. 279, 2017.

PAULELLI, A.C.C. et al. Fundão tailings dam failure in Brazil: Evidence of a population exposed to high levels of Al, As, Hg, and Ni after a human biomonitoring study. **Environmental Research**, v. 205, p. 112524, 2022.

RAHMAN, Z.; SINGH, V. P. Bioremediation of toxic heavy metals (THMs) contaminated sites: concepts, applications and challenges. **Environmental Science and Pollution Research International**, 2020.

RAHMAN, Z.; SINGH, V.P. The relative impact of toxic heavy metals (THMs)(arsenic (As), cadmium (Cd), chromium (Cr)(VI), mercury (Hg), and lead (Pb)) on the total environment: an overview. **Environmental monitoring and assessment**, v. 191, n. 7, p. 1-21, 2019.

RAJASIMMAN, M. et al. Utilization of agroindustrial wastes with a high content of protein, carbohydrates, and fatty acid used for mass production of biosurfactant. In: **Green Sustainable Process for Chemical and Environmental Engineering and Science**. Elsevier, 2021. p. 127-146.

RAMANI, K. et al. Microbial induced lipoprotein biosurfactant from slaughterhouse lipid waste and its application to the removal of metal ions from aqueous solution. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 97, p. 254-263, 2012.

RAWAT, G.; DHASMANA, A.; KUMAR, V. Biosurfactants: The next generation biomolecules for diverse applications. **Environmental Sustainability**, p. 1-17, 2020.

REN, H. et al. Treatment mechanism of sludge containing highly viscous heavy oil using biosurfactant. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 585, p. 124117, 2020.

RIBEIRO, B.G.; GUERRA, J.M.C.; SARUBBO, L.A. Biosurfactants: Production and Application Prospects in the Food Industry. **Biotechnology Progress**, v.36, n.4, p.20, 2020.

Silva, R.R. Produção de biossurfactante e aplicação na remediação de ambientes cont...

RIVERA, A.D.; URBINA, M. A. M.; LÓPEZ, V. E. L. Advances on research in the use of agro-industrial waste in biosurfactant production. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 35, n. 10, p. 155, 2019.

ROCHA JUNIOR, R.B.; MEIRA, H.M; ALMEIDA, D.G. et al. Application of a low-cost biosurfactant in heavy metal remediation processes. **Biodegradation**, v. 30, n. 4, p. 215-233, 2019.

ROCHA E SILVA, N. M. P. et al. Natural surfactants and their applications for heavy oil removal in industry. **Separation & Purification Reviews**, v. 48, n. 4, p. 267-281, 2019.

ROSA, C.F.C; FREIRE, D.M.G; FERRAZ, H.C. Biosurfactant microfoam: application in the removal of pollutants from soil. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 3, n. 1, p. 89-94, 2015.

ROY, A. Review on the biosurfactants: properties, types and its applications. **J. Fundam. Renew. Energy Appl**, v. 8, p. 1-14, 2017.

SALL, M.L. et al. Toxic heavy metals: impact on the environment and human health, and treatment with conducting organic polymers, a review. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, p. 29927-29942, 2020.

SANTOS, D.K.F.; RUFINO, R.D.; LUNA, J.M. et al. Biosurfactants: multifunctional biomolecules of the 21st century. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 3, p. 401, 2016.

SANTOS, D.K.F et al. Synthesis and evaluation of biosurfactant produced by *Candida lipolytica* using animal fat and corn steep liquor. **Journal of Petroleum Science and Engineering**, v. 105, p. 43-50, 2013.

SANTOS, D. K.F et al. Optimization of cultural conditions for biosurfactant production from *Candida lipolytica*. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 3, n. 3, p. 48-57, 2014.

SARUBBO, L. et al. Application of a low cost biosurfactant in the removal of heavy metals in soil. **Chemical Engineering Transactions**, v. 64, p. 433-438, 2018.

SARUBBO, L.A. et al. Some aspects of heavy metals contamination remediation and role of biosurfactants. **Chemistry and Ecology**, v. 31, p. 707-132, 2015.

SELLAMI, M. et al. Agro-industrial waste based growth media optimization for biosurfactant production by *Aneurinibacillus migulanus*. **Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences**, v. 2021, p. 578-583, 2021.

SHARMA, P.; KUMAR, S. Bioremediation of heavy metals from industrial effluents by endophytes and their metabolic activity: Recent advances. **Bioresource Technology**, v. 339, p. 125589, 2021.

Silva, R.R. Produção de biossurfactante e aplicação na remediação de ambientes cont...

SILVA SANTOS, E.M. et al. Enhanced oil removal by a non-toxic biosurfactant formulation. **Energies**, v. 14, n. 2, p. 467, 2021

SILVA, I.G.S. et al. Application of green surfactants in the remediation of soils contaminated by hydrocarbons. **Processes**, v. 9, n. 9, p. 1666, 2021.

SINGH, P.; PATIL, Y.; RALE, V. Biosurfactant production: emerging trends and promising strategies. **Journal of applied microbiology**, v. 126, n. 1, p. 2-13, 2019.

SINGH, S. et al. Biosurfactant-based bioremediation. In: **Bioremediation of Pollutants**. Elsevier, 2020. p. 333-358.

SILVA, E.J. et al. Recovery of contaminated marine environments by biosurfactant-enhanced bioremediation. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 172, p. 127-135, 2018.

SOUZA, K.S.T. et al. Improvement of biosurfactant production by *Wickerhamomyces anomalus* CCMA 0358 and its potential application in bioremediation. **Journal of hazardous materials**, v. 346, p. 152-158, 2018.

SOUZA, K.S.T. et al. New glycolipid biosurfactants produced by the yeast strain *Wickerhamomyces anomalus* CCMA 0358. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 154, p. 373-382, 2017.

SUGANTHI, S.H. et al. Enhanced biodegradation of hydrocarbons in petroleum tank bottom oil sludge and characterization of biocatalysts and biosurfactants. **Journal of environmental management**, v. 220, p. 87-95, 2018.

SURYAWANSHI, T. et al. Utilisation of oil-based waste for biosurfactant production. **International Journal of Environment and Sustainable Development**, v. 20, n. 1, p. 89-104, 2021.

TANG, J.; HE, J.; XIN, X. et al. Biosurfactants enhanced heavy metals removal from sludge in the electrokinetic treatment. **Chemical Engineering Journal**, v. 334, n.1, p. 2579-2592, 2018.

TANG, J. et al. Removal of heavy metals with sequential sludge washing techniques using saponin: optimization conditions, kinetics, removal effectiveness, binding intensity, mobility and mechanism. **RSC advances**, v. 7, n. 53, p. 33385-33401, 2017.

TRUDGEON, Benjamin et al. Low-Temperature Biosurfactants from Polar Microbes. **Microorganisms**, v. 8, n. 8, p. 1183, 2020.

VECINO, X. et al. Biosurfactants in cosmetic formulations: trends and challenges. **Critical reviews in biotechnology**, v. 37, n. 7, p. 911-923, 2017.

Silva, R.R. Produção de biossurfactante e aplicação na remediação de ambientes cont...

VERA, E.C.S. et al. Optimization of biosurfactant and bacteriocin-like inhibitory substance (BLIS) production by *Lactococcus lactis* CECT-4434 from agroindustrial waste. **Biochemical Engineering Journal**, v. 133, p. 168-178, 2018.

VIEIRA, I.M.M. et al. Potential of pineapple peel in the alternative composition of culture media for biosurfactant production. **Environmental Science and Pollution Research**, p. 1-15, 2021.

VIJAYAKUMAR, S.; SARAVANAN, V. Biosurfactants: types, sources and applications. **Research Journal of Microbiology**, v. 10, n. 5, p. 181, 2015.

WEN, D.; FU, R.; LI, Q. Removal of inorganic contaminants in soil by electrokinetic remediation technologies: A review. **Journal of Hazardous Materials**, v. 401, p. 123345, 2021.

WILLIAMS, W.; TRINDADE, M. T.C. Functional Metagenomics: Tools and Applications. **Springer International Publishing AG**, T.C. Charles, M. R. Liles, A. Sessitsch (eds.), 253 p., 2017.

YANG, Z. et al. Combination of bioleaching by gross bacterial biosurfactants and flocculation: A potential remediation for the heavy metal contaminated soils. **Chemosphere**, v. 206, p. 83-91, 2018.

ZAMBRY, N.S. et al. Production of lipopeptide biosurfactant in batch and fed-batch *Streptomyces* sp. PBD-410L cultures growing on palm oil. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 44, n. 7, p. 1577-1592, 2021.

ZANOTTO, A. W. et al. New sustainable alternatives to reduce the production costs for surfactin 50 years after the discovery. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 103, n. 21-22, p. 8647-8656, 2019.

CAPÍTULO II

Patente depositada (INPI): PROCESSO DE PRODUÇÃO DE BIOSURFACTANTE POR *Candida bombicola*

Número do processo: BR 10 2022 004610 7

RESUMO

PROCESSO DE PRODUÇÃO DE BIOSSURFACTANTE POR *Candida bombicola*

A utilização dos biossurfactantes desperta grande interesse industrial em função da diversidade de estruturas e produção a partir de fontes renováveis. A presente invenção descreve o processo para obtenção de biossurfactante por *Candida bombicola*. O processo é realizado em escala de bancada, por fermentação aeróbia, utilizando o meio de cultura constituído por melaço, milhocina e óleo de soja residual como matéria prima renovável, durante 144 horas a 28 °C a 200 rpm. O biossurfactante obtido, denominado Bombisan, apresenta capacidade de redução da tensão superficial para 25 mN/m, uma Concentração Micelar Crítica de 0,5 g/L e um excelente rendimento de 16 g/L, o que o faz capaz de concorrer com os surfactantes químicos atualmente disponíveis no mercado.

PROCESSO DE PRODUÇÃO DE BIOSURFACTANTE POR *Candida bombicola*

Campo Técnico

[001] A presente invenção refere-se a um processo de obtenção de um novo biossurfactante, nomeado de *Bombisan*, produzido pela levedura *Candida bombicola* a partir de resíduos industriais, constituído por melaço (resíduo do processamento de açúcar), milhocina (resíduo da indústria do processamento do milho) e óleo vegetal de soja residual atendendo aos requisitos essenciais de sustentabilidade.

Estado da Técnica

[002] Os surfactantes são compostos anfifílicos formados por estruturas moleculares contendo porções hidrofílicas e hidrofóbicas, que tendem a se distribuir nas interfaces entre fases fluidas com diferentes graus de polaridade (óleo/água), com capacidade de diminuir a tensão superficial e interfacial (KUMAR e NGUEAGNI et al., 2021; CHAPRÃO et al., 2018; AKBARI et al., 2018).

[003] Os surfactantes mais produzidos atualmente são quimicamente derivados do petróleo, todavia, esses agentes tensoativos sintéticos são tóxicos e difíceis de decompor através da ação de microrganismos. Nos últimos anos, esses problemas motivaram a comunidade científica a procurar surfactantes alcançados através da produção microbiana, os biossurfactantes (GAUR et al., 2022; ROCHA E SILVA et., 2019). Devido a sua origem biológica os tensoativos microbianos possuem diversas vantagens, como: baixa toxicidade; biodegradabilidade; compatibilidade com o meio ambiente, são altamente seletivos e específicos devido a sua capacidade de atividade em ambientes extremos (pH, temperatura e salinidade) (ADETUNJI e OLANIRAN, 2021).

[004] Os biossurfactantes são classificados de acordo com seu peso molecular, composição química e origem microbiana. Quanto à origem microbiana, existe uma grande diversidade de microrganismos produtores distribuídos nos mais diversos

gêneros, abrangendo diferentes espécies de bactérias, fungos filamentosos e leveduras. Esses microrganismos são responsáveis pela produção de biossurfactantes com notável diversidade estrutural e funcional (VIEIRA et al., 2021).

[005] As propriedades mais importantes avaliadas na busca de biossurfactantes considerados promissores, são a redução da tensão superficial abaixo de 30mN/m, baixa Concentração Micelar Crítica (CMC), capacidade de estabilidade térmica, pH, ausência de toxicidade e redução da viscosidade de poluentes hidrofóbicos.

[006] Embora os biossurfactantes sejam uma alternativa aos surfactantes químicos, seus altos custos do processo ainda dificultam sua produção em escala industrial. O desenvolvimento de um processo competitivo a termos de custo é de grande importância, levando em consideração que os custos de produção são significativamente maiores do que os surfactantes sintéticos. Novas abordagens precisam ser exploradas, como a utilização de fontes alternativas. A utilização dessas estratégias reduz de 10 a 80 % dos custos gerais de produção. O emprego de processos biotecnológicos na produção de biossurfactantes são mais rentáveis em longo prazo, visto que, implicam em menos desperdícios de material e energia (MOUTINHO et al., 2021). Vários resíduos renováveis e de baixo custo são empregados como substratos para a produção de biossurfactantes, estabelecendo uma estratégia eficaz de redução de custos associada ao gerenciamento de resíduos (SINGH; PATIL; RALE, 2019).

[007] O Brasil é um grande produtor e exportador de produtos agrícolas. Essa alta produtividade gera um enorme volume de resíduos com potencial poluidor. Contudo, esses resíduos agroindustriais podem ser utilizados na fabricação de produtos de alto valor agregado, permitindo a utilização dos mais variados resíduos para fins produtivos como desenvolvimento e inovação de novas tecnologias, minimizando os impactos ambientais causados por práticas inadequadas de descarte (NUNES et al., 2021) Vários processos biotecnológicos têm sido desenvolvidos para a utilização desses resíduos agroindustriais na produção de compostos de interesse, tais como enzimas, biocombustíveis, aminoácidos e biossurfactantes.

Silva, R.R. Produção de biossurfactante e aplicação na remediação de ambientes cont...

[008] Dessa forma, o potencial microbiano para a produção de biossurfactantes empregando substratos agroindustriais de baixo custo pode tornar o processo de produção global sustentável e econômico (SODHI et al., 2022).

[009] Diante desse cenário, é de extrema importância a obtenção de biossurfactantes a partir de microrganismos utilizando resíduos industriais como substratos, pois é uma alternativa de minimizar os impactos ambientais e representa um elevado interesse industrial e ambiental.

Problemas do Estado da Técnica

[010] Os surfactantes são produzidos quimicamente a partir de derivados de petróleo, causando sérios problemas devido a sua não biodegradabilidade e toxicidade. Enquanto que os biossurfactantes são naturais e produzidos via microbiológicas.

[011] Em formulações industriais, os surfactantes químicos são amplamente utilizados de forma contínua e prolongada, como princípio ativo em vários produtos de higiene e detergentes e podem causar efeitos alérgicos aos seres humanos. No entanto, assim como os surfactantes químicos, os biossurfactantes também podem ser aplicados nos mais diversos setores industriais devido as suas propriedades físico-químicas, com o diferencial de ser uma biomolécula natural, biodegradável e atóxica, que não causa danos aos seres humanos e ao meio ambiente.

[012] Uma problemática com relação a comercialização de biossurfactantes de origem microbiana, está relacionado ao elevado custo de produção.

[013] Uma alternativa para reduzir o custo do processo, para a obtenção do biossurfactante, está no uso de resíduos industriais. No entanto, uma atenção diferenciada deve ser dada para a escolha dos resíduos, de modo que contenha um adequado balanço de nutrientes, permitindo o desenvolvimento dos microrganismos. Além disso, esta tecnologia dispensa o uso de constituintes de alto valor econômico, o que viabiliza o processo, uma vez que o meio de produção representa,

Silva, R.R. Produção de biossurfactante e aplicação na remediação de ambientes cont...

aproximadamente, 60% do custo final do produto e ao mesmo tempo, contribui com a redução da poluição ambiental.

[014] Nesse sentido, o desenvolvimento de um processo para obtenção de um biossurfactante atóxico, biodegradável e com propriedades superiores aos surfactantes químicos, atende aos padrões da sustentabilidade e tecnologias ecologicamente correta.

Objetivo da Invenção

[015] A presente invenção tem como objetivo o processo de produção de um novo biossurfactante, Bombisan, obtido a partir da *Candida bombicola*, utilizando melaço, milhocina e óleo de soja residual, com potencial uso em formulações industriais (detergentes) e na biorremediação.

Vantagem da Invenção

[016] O biossurfactante isolado de *Candida bombicola*, Bombisan, quando comparado a surfactantes sintéticos, apresenta excelente capacidade de redução da tensão superficial e baixa Concentração Micelar Crítica. Essas propriedades caracterizam o Bombisan como uma biomolécula nova, ativa, com possível biocompatibilidade para uso em produtos industriais de limpeza (detergente) e biorremediação.

[017] O bioprocesso para a obtenção do Bombisan atende aos requisitos de sustentabilidade ambiental, por ser sintetizado a partir de microrganismos utilizando matéria prima renovável, empregando como substratos um processo alternativo no tratamento de resíduos.

[018] O biossurfactante pode ser produzido a partir de substratos renováveis e resíduos agroindustriais.

Breve descrição dos desenhos

[019] Figura 1 – Etapas de produção do biossurfactante por *Candida bombicola*

[020] A Figura 1 apresenta as etapas de produção do biossurfactante a partir da levedura *C. bombicola* em meio composto por resíduos industriais em frascos de Erlenmeyer, seguida da otimização do isolamento do biossurfactante.

[021] Figura 2 – Biossurfactante isolado submetido à análise de tensão superficial e Concentração Micelar Crítica (CMC)

[022] A Figura 2 apresenta o biossurfactante extraído do líquido metabólico (isolado) sendo avaliado através da tensão superficial e Concentração Micelar Crítica (CMC) para comprovação das propriedades do biossurfactante.

Descrição Geral da Invenção

[023] A presente invenção propõe um processo biotecnológico de um novo biossurfactante, denominado Bombisan, obtido por biossíntese da *Candida bombicola*, através da bioconversão de resíduos industriais (melaço, milhocina e óleo de soja residual).

[024] De acordo com os dados obtidos na literatura especializada, a eficiência de um biossurfactante é dada pela redução da tensão superficial para valores abaixo de 30 mN/m. Assim o Bombisan, biossurfactante obtido pela *Candida bombicola*, é aqui repostado como uma biomolécula com excelente ação tensoativa, capaz de reduzir a tensão superficial para 25 mN/m e uma Concentração Micelar Crítica (CMC) de 0,5 g/L, demonstrando seu potencial para concorrer com os surfactantes sintéticos atualmente disponíveis no mercado.

[025] O Bombisan, biossurfactante bruto excretado por *C. bombicola* no meio formulado por resíduos industriais (melaço, milhocina e óleo de soja - após fritura), possui um

excelente rendimento (16 g/L), e esta também é uma característica fundamental para viabilizar a comercialização de biossurfactantes.

Descrição Detalhada da Invenção

[026] Na presente invenção, um novo biossurfactante, Bombisan, é obtido pela bioconversão dos resíduos industriais (melaço, milhocina e óleo de soja - após fritura) por *Candida bombicola*.

[027] Na primeira etapa, o inóculo é realizado utilizando a levedura *Candida bombicola*, mantida em meio Yeast Mold Agar (YMA) composto por: extrato de malte (3 g/L), extrato de levedura (3 g/L), triptona (5 g/L), D-glicose (10 g/L) e Ágar (20 g/L), que quando excluído o ágar constitui o meio do pré-inóculo YMB (Yeast Mold Broth), ambos com pH final 5,5. Para obtenção do pré-inóculo a levedura *C. bombicola* é transferida para frascos de Erlenmeyer contendo meio líquido Yeast Mold Broth (YMB) e incubada a 150 rpm em Shaker orbital a 28°C, durante 24 horas.

[028] Na segunda etapa, o meio de produção é realizado com água destilada suplementada com 5,0 % de melaço, 3,0 % de milhocina e 2,5 % de óleo vegetal - após fritura. Em seguida, o meio de produção é esterilizado em autoclave a 121°C, durante 20 minutos.

[029] Na terceira etapa, a produção de biossurfactante é realizada em Erlenmeyer contendo uma suspensão da levedura de 10^4 células/mL do pré-inóculo e 1,0 L do meio de produção, incubados a 200 rpm em Shaker orbital a 28°C, durante 144 horas.

[030] Na quinta etapa, a confirmação da produção é realizada por medição da tensão superficial no biossurfactante bruto (líquido metabólico livre de células), pelo método do Anel de Du Nuoy, em tensiômetro automático.

[031] A etapa de extração do biossurfactante presente no meio é realizada utilizando um método contendo um solvente orgânico, o acetato de etila. A extração foi realizada em uma proporção 1:4 (v/v) do líquido metabólico não centrifugado. O processo foi repetido duas vezes, posteriormente, o solvente foi levado para centrifugação durante 15 minutos à 4500 rpm. Em seguida, a fase orgânica foi transferida para um funil de separação descartando-se a possível fase aquosa evidenciada devido à lavagem do mesmo utilizando a adição de uma solução saturada de cloreto de sódio (NaCl). O solvente foi seco com sulfato de sódio e em seguida filtrado. Por fim, fase orgânica foi levada para chapa aquecedora para evaporação do solvente e obtenção do biossurfactante isolado.

[032] Após a etapa de extração do Bombisan, a Concentração Micelar Crítica (CMC) foi determinada pela medição da tensão superficial de diluições do biossurfactante isolado em água destilada para um valor constante da tensão superficial.

REINVIDICAÇÕES

PROCESSO DE PRODUÇÃO DE BIOSSURFACTANTE POR *Candida bombicola*

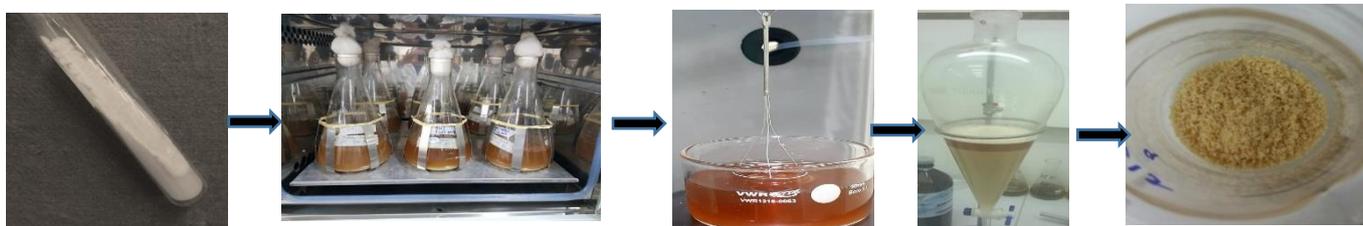
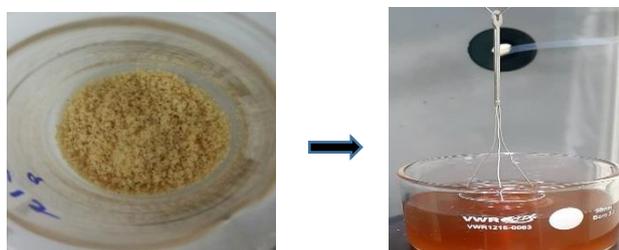
01. **Processo para obtenção de um novo biossurfactante obtido pela levedura *Candida bombicola***, caracterizado por ser obtido a partir de um meio de cultura formulado por resíduos agroindustriais melão (resíduo do processamento de açúcar), milhocina (resíduo da indústria do processamento do milho) e óleo vegetal de soja residual.

02. Processo de acordo com a reivindicação 1:
Caracterizado por ser um processo para obtenção de um biossurfactante, a partir de uma fermentação biológica, por uma levedura.

03. Processo de acordo com a reivindicação 1:
Caracterizado por ser um processo para obtenção de biossurfactante por *Candida bombicola* com excelente capacidade de redução da tensão superficial para 25 mN/m.

04. Processo de acordo com a reivindicação 1:
Caracterizado por ser um processo para obtenção de biossurfactante com rendimento de 16 g por litro.

05. Processo de acordo com a reivindicação 1:
Caracterizado por ser um processo para obtenção de biossurfactante por *Candida bombicola* com Concentração Micelar Crítica (CMC) de 0,5 g/L.

FIGURAS**FIGURA 1****FIGURA 2**

CAPÍTULO III

Patente depositada (INPI): NOVO BIOPRODUTO (BOMBISAN) COM POTENCIAL DE APLICAÇÃO NA REMOÇÃO DE METAIS PESADOS

Número do processo: BR 10 2022 004611 5

RESUMO
NOVO BIOPRODUTO (BOMBISAN) COM POTENCIAL DE APLICAÇÃO NA
REMOÇÃO DE METAIS PESADOS

O interesse industrial pelos surfactantes de origem microbiana tem se intensificado nos últimos tempos em função das características desses compostos, como biodegradabilidade, toxicidade reduzida e da eficiência destes na remoção de metais pesados e compostos orgânicos hidrofóbicos em solos e águas. A presente invenção trata de um novo bioproduto (Bombisan), biodegradável e obtido por levedura a partir de resíduos industriais. O Bombisan apresenta alta capacidade emulsificante, estabilidade em ampla faixa de pH (2-12), temperatura (0, 5, 70 100 e 120 °C) e salidade (2-12), além da capacidade de remoção de metais pesados em solo e efluentes contaminados. O Bombisan foi caracterizado como uma molécula aniônica e polimérica, composto por carboidratos, lipídeos e proteínas. O biossurfactante não apresentou toxicidade, demonstrou excelentes resultados na remoção de metais pesados Fe, Zn e Pb em solo contaminado sob condições dinâmicas. Testes em colunas empacotadas também confirmaram a capacidade do biossurfactante na remoção de Fe, Zn e Pb sob condições estáticas. Devido a essas características, o biossurfactante obtido pode ser empregado na descontaminação de águas e solos contaminados por metais pesados e na recuperação avançada de petróleo.

NOVO BIOPRODUTO (BOMBISAN) COM POTENCIAL DE APLICAÇÃO NA REMOÇÃO DE METAIS PESADOS

Campo Técnico

[001] A presente invenção refere-se ao desenvolvimento de um novo bioproduto constituído por surfactante natural (biossurfactante), produzido em meio contendo resíduos agroindustriais, que apresenta potencial aplicação na remoção de metais pesados.

[002] Bioproduto biodegradável que proporciona uma utilização inovadora através de sua característica atóxica e eficiente na remoção de metais pesados em solos e efluentes, com relação aos demais produtos existentes no mercado.

Estado da Técnica

[003] Os biossurfactantes são sintetizados por leveduras, bactérias e fungos filamentosos, e também podem ser extraídos de plantas (SILVA SANTOS et al., 2021). Podem ser aplicados em diferentes setores industriais, como os de cosméticos, farmacêutica, alimentícia, petróleo, têxtil e podem ser utilizados na aplicação de solos contaminados (AKBARI et al., 2018).

[004] São moléculas caracterizadas principalmente pela redução da tensão superficial entre sistemas imiscíveis (Santos et al., 2016). Além disso, são classificados em 3 grupos principais: tensoativos não iônicos, aniônicos e catiônicos (CHENG et al., 2020).

[005] A capacidade do biossurfactante em manter a sua atividade tensoativa e emulsificante inalterada após a exposição a condições extremas de temperatura, pH e diferentes concentrações de Cloreto de sódio, tem sido frequentemente investigada, em função da necessidade para o direcionamento da sua aplicação industrial (Santos et al., 2016).

Silva, R.R. Produção de biossurfactante e aplicação na remediação de ambientes cont...

[006] Os biossurfactantes apresentam uma série de vantagens sobre suas contrapartes sintéticas: menor toxicidade, propriedades antimicrobianas, biodegradabilidade e compatibilidade ambiental. Além de serem produzidos em substratos renováveis (CHEN et al., 2011).

[007] Os biossurfactantes são classificados quanto a sua estrutura química, como glicolipídeos, lipopeptídeos, lipopolissacarídeos e fosfolipídeos. Os glicolipídeos, em especial, são constituídos pela combinação de carboidratos e lipídeos, podendo ser produzidos tanto por leveduras como por bactérias e no mercado global, estão entre os biossurfactantes mais vendidos para formulação de produtos de limpeza e cosméticos.

[008] Devido a sua diversidade estrutural e propriedades funcionais, os biossurfactantes desempenham papéis de grande importância em aplicações ambientais. Tecnologias de remediação utilizando biossurfactantes e microrganismos produtores ajudam a limpar hidrocarbonetos e metais pesados de áreas poluídas (JAHAN et al., 2020).

[009] Sendo assim, a presente invenção oferece um bioproduto (Bombisan) biodegradável, atóxico, estável e com potencial de aplicação na remoção de metais pesados em solos e efluentes contaminados, proporcionando geração de tecnologia sustentável.

Problemas do Estado da Técnica

[010] A contaminação dos solos e água por metais pesados surge como resultado das diversas atividades industriais, incluindo mineração, fundição de metais e produção de baterias automobilísticas. Diante dessa realidade, a necessidade do desenvolvimento de novas tecnologias para a remediação dos contaminantes gerados torna-se cada vez mais emergencial.

[011] Os surfactantes sintéticos produzidos a base de petróleo são utilizados para remediar essas áreas contaminadas por metais pesados, portanto podem causar sérios problemas ambientais e aos seres humanos.

[012] Com a necessidade de preservação ambiental, as legislações de controle do meio ambiente têm levado ao desenvolvimento de surfactantes naturais como alternativa aos produtos existentes.

[013] Os compostos de origem microbiana que exibem propriedades surfactantes são denominados biossurfactantes e consistem em subprodutos metabólicos de bactérias, leveduras e fungos filamentosos. Os substratos mais estudados para a produção dos biossurfactantes têm sido os hidrocarbonetos, carboidratos e óleos vegetais, embora a produção ainda não seja economicamente vantajosa quando comparada à produção de surfactantes sintéticos.

[014] Devido a sua origem biológica os tensoativos microbianos possuem diversas vantagens, como baixa toxicidade; biodegradabilidade; compatibilidade com o meio ambiente, são altamente seletivos e específicos devido a sua capacidade de atividade em ambientes extremos (pH, temperatura e salinidade) (ADETUNJI; OLANIRAN, 2021).

[015] Atualmente, as empresas são cobradas pela sociedade para produzirem produtos ambientalmente corretos como alternativa sustentável.

[016] O grande desafio dos biossurfactantes é o elevado custo de produção comparado aos surfactantes sintéticos.

[017] Os biossurfactantes possuem elevado valor comercial quando comparado aos surfactantes sintéticos. A diferença de valor chega a ser 50 vezes maior para os biossurfactantes quando comparados aos surfactantes sintéticos.

Silva, R.R. Produção de biossurfactante e aplicação na remediação de ambientes cont...

[018] Diante desse cenário, a extrema importância da utilização de um bioproduto biodegradável e atóxico como uma alternativa de remediar, e minimizar os impactos ambientais representa um elevado interesse industrial e ambiental.

Objetivo da Invenção

[019] A presente invenção tem como objetivo um novo bioproduto (Bombisan) produzido por levedura *Candida bombicola*, com potencial de aplicação na remoção de metais pesados contidos em solos e efluentes industriais.

Vantagens da Invenção

[020] O Bombisan é uma alternativa promissora para estimular o mercado mundial na utilização de produtos menos tóxicos, biodegradáveis e com menor impacto ambiental, além de proporcionar inovação e geração de tecnologia sustentável.

[021] Utilização de um bioproduto biodegradável, o biossurfactante pertence a “Química Verde”, ou seja, uma classe de compostos químicos que não causam contaminação ao meio ambiente.

[022] O Bombisan apresenta capacidade surfactante e emulsificante, bem como estabilidade em condições adversas (temperatura, pH e salinidade), é atóxico e biodegradável, apresentando-se ser promissor na remoção de metais pesados.

[023] O Bombisan é produzido ecologicamente correto através do cultivo de um micro-organismo.

[024] Em comparação com alguns surfactantes químicos e biossurfactantes que já são comercializados, o Bombisan não apresenta toxicidade. Esta é uma propriedade importante, uma vez que, existe uma crescente preocupação com efeitos alérgicos e tóxicos de produtos, seja em produtos de limpeza e no meio ambiente.

[025] O Bombisan obtido apresentou capacidade emulsificante, poder de redução de tensão superficial, estabilidade em ampla faixa de pH, temperatura e salinidade, além de capacidade de remoção de metais pesados adsorvidos em solo. Devido a essas características o biossurfactante obtido pode ser empregado em recuperação avançada de petróleo, na descontaminação de águas contaminadas com óleos e na remediação de solos contaminados por metais pesados.

Breve descrição dos desenhos

[026] A Figura 1 mostra o fluxograma da avaliação das propriedades e aplicações do bioproduto Bombisan.

[027] A Figura 2 mostra a representação da estabilidade da tensão superficial frente a diferentes variações (A) NaC (2-12), (B) Temperaturas (0,5,70, 100 e 120°C) e (C) pH (2-12) do Bombisan

[028] A Figura 3 mostra a representação da estabilidade do índice de emulsificação frente a diferentes variações (A) NaC (2-12), (B) Temperaturas (0,5,70, 100 e 120°C) e (C) pH (2-12) do Bombisan

[029] A Figura 4 mostra os espectros da caracterização química por Infravermelho do bioproduto (Bombisan).

[030] A Figura 5 mostra os espectros da caracterização química por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) do Bombisan.

[031] A Figura 6 mostra a representação em (A) Teste estático utilizando coluna empacotada contendo solo contaminado com metais pesados Ferro, chumbo e zinco. (B) Resultados de remoção dos metais pesados Pb, Fe e Zn contidos em solo contaminado pelo biossurfactante bruto (liquido metabólico livre de células) e em diferentes concentrações do biossurfactante isolado (Bombisan) em ensaio estático

[032] A Figura 7 mostra a representação dos resultados de remoção dos metais pesados Pb, Fe e Zn contidos em solo contaminado pelo biossurfactante bruto (líquido metabólico livre de células) e em diferentes concentrações do biossurfactante isolado (Bombisan) em ensaio dinâmico.

[033] A Figura 8 mostra a representação da cinética de remoção dos metais pesados Pb, Fe e Zn contidos em solo contaminado pelo biossurfactante bruto (líquido metabólico livre de células) ao longo de 24 horas.

[034] A Tabela 1 mostra a representação dos resultados da condutividade antes e após a adição do bioproduto (Bombisan), em diferentes concentrações, em soluções metálicas contendo nitrato de chumbo e nitrato de cádmio

Descrição Geral da invenção

[035] A presente invenção propõe um bioproduto (Bombisan), produzido em meio sustentável contendo melaço, milhocina e óleo de soja residual.

[036] O bioproduto Bombisan de carga aniônica, demonstrou valores estáveis de tensão superficial e índice de emulsificação, após a exposição a diferentes valores de pH (2, 4, 6, 8, 10 e 12), temperatura (0, 5, 70, 100 e 120 °C) e concentrações de NaCl (2, 4, 6, 8, 10 e 12 %), comprovando que é potencialmente ativo após as referidas exposições.

[037] A elucidação da estrutura molecular do Bombisan consiste em espectroscopia de infravermelho, RMN e carga iônica.

[038] A carga iônica do Bombisan é identificada pela análise do Potencial Zeta em equipamento (modelo ZM3-DG+3.0 Zeta Meter).

Silva, R.R. Produção de biossurfactante e aplicação na remediação de ambientes cont...

[039] O Bombisan isolado possui natureza polimérica. Os carbonos saturados presentes na molécula são responsáveis pela fração hidrofóbica da estrutura; possuem grupos funcionais de ácidos graxos e cadeia lateral de alguns aminoácidos; lipídeos; proteínas; oligo e polissacarídeos.

[040] A toxicidade do Bombisan é avaliada em teste estático baseado na germinação de sementes e no alongamento da raiz vegetal de alface (*Lactuca sativa*).

[041] Após a elucidação da estrutura, o Bombisan foi testado quanto a sua capacidade de remoção de metais Pb, Zn e Fe em solo em ensaios dinâmicos e estáticos.

[042] O Bombisan apresentou excelentes resultados de remoção dos metais. No ensaio dinâmico, o biossurfactante bruto (líquido metabólico livre de células) foi capaz de remover significativamente 48, 71 e 88 % de chumbo, Zinco e Ferro do solo, respectivamente. O tratamento onde foi utilizada solução do biossurfactante isolado (Bombisan) a 1% demonstraram valores de remoção dos metais Fe (80%), Zn (70%) e Pb (45%), resultados superiores quando comparados aos trabalhos obtidos na literatura.

[043] A remoção dos metais pesados utilizando o Bombisan demonstrou ótima eficiência no ensaio estático. O tratamento do solo na concentração de 1 % de biossurfactante isolado (Bombisan) alcançaram capacidade de remoção dos metais com 40, 60 e 65 % para Pb, Zn e Fe, respectivamente. O biossurfactante bruto (líquido metabólico livre de células) também apresentou ótima eficiência de remoção com percentuais de 37, 58 e 60 % para Pb, Zn e Fe, respectivamente.

[044] A cinética de remoção de metais pesados foi estudada em um período de 24 horas com o objetivo de reduzir o tempo de ação do Bioproduto (Bombisan). O experimento cinético mostrou que os melhores resultados de remoção de metais pesados foram obtidos ao final das 24 horas de experimento, onde atingiu remoção de 50, 70 e 85 % para Pb, Zn e Fe, respectivamente.

Silva, R.R. Produção de biossurfactante e aplicação na remediação de ambientes cont...

[045] O Bombisan apresentou resultados bastante promissores na redução da condutividade das soluções contendo os metais pesados cádmio (Cd) e chumbo (Pb).

Descrição detalhada da Invenção

[046] A presente invenção propõe um bioproduto (Bombisan), produzido em meio sustentável contendo melaço, milhocina e óleo de soja residual.

[047] A estabilidade do Bombisan é avaliada no líquido metabólico livre de células, após a exposição a diferentes valores de pH (2 - 12), temperatura (0, 5, 70, 100 e 120 °C) e concentrações de NaCl (2 -12 %).

[048] Após a etapa de estabilidade, é avaliada a toxicidade do Bombisan.

[049] A elucidação da estrutura molecular do Bombisan consiste em espectroscopia de infravermelho, RMN e carga iônica.

[050] A primeira análise para o conhecimento da estrutura do Bombisan é a espectroscopia por InfraVermelho, onde a estrutura química e os componentes da amostra isolada do biossurfactante foram determinados.

[051] A segunda análise para o conhecimento da estrutura do Bombisan é a espectroscopia por Ressonância Magnética Nuclear (RMN), onde o biossurfactante isolado e semi-purificado foi dissolvido em clorofórmio, e as soluções foram colocadas em um tubo magnético nuclear e foram analisadas.

[052] A carga iônica do Bombisan é identificada pela análise do Potencial Zeta em equipamento (modelo ZM3-DG+3.0 Zeta Meter).

[053] Após a elucidação da estrutura, o Bombisan foi testado quanto a capacidade de remoção dos metais Pb, Zn e Fe em solo, utilizando ensaio dinâmico. O processo de lavagem do solo foi realizado em função da concentração da solução do

biossurfactante (Bombisan) ($\frac{1}{2}$ CMC (0,25g/L), 1CMC(0,5g/L) e 2CMC(1g/L), biossurfactante bruto (líquido metabólico livre de células), e água destilada como controle. As amostras foram incubadas em shaker com rotação orbital a 200 rpm durante 24 h à 27 °C e posteriormente foram centrifugadas a 5000 g por 10 minutos. O líquido sobrenadante foi submetido à quantificação dos metais pesados utilizando espectrômetro ICP-OES Optima 7000DV, PerkinElmer (LUNA et al., 2015).

[054] Em seguida, um outro teste foi realizado para avaliar a capacidade do Bombisan na remoção dos metais Pb, Zn e Fe utilizando ensaio estático. O solo contaminado com metais foi colocado em colunas de vidro (57 cm de altura e 3,0 cm de diâmetro). As soluções utilizadas para os testes foram: água destilada, como controle; solução do biossurfactante bruto (líquido metabólico livre de células) e do biossurfactante isolado (Bombisan) em diferentes concentrações ($\frac{1}{2}$ CMC (0,25g/L), 1CMC(0,5g/L) e 2 CMC(1g/L). Após a lavagem das colunas, as amostras do solo foram submetidas à quantificação dos metais pesados utilizando espectrômetro ICP-OES Optima 7000DV, PerkinElmer.

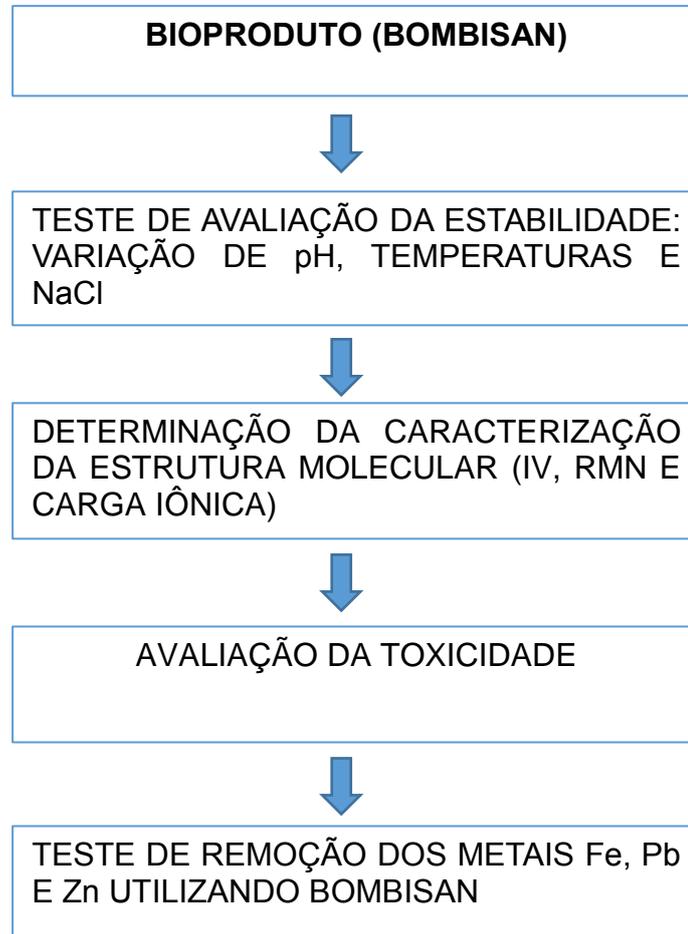
[055] A cinética de remoção dos metais pesados Fe, Pb e Zn é avaliada utilizando o Bombisan. Amostras de 5,0 g do solo foram adicionadas a 50 mL da solução do biossurfactante (Bombisan), agitadas a 150 rpm durante 0,5, 1, 3, 6, 12 e 24 horas e então centrifugadas a 5000 g por 15 min. Após a lavagem, as amostras do solo foram submetidas à quantificação dos metais pesados utilizando espectrômetro ICP-OES Optima 7000DV, PerkinElmer (ROCHA JUNIOR et al., 2019).

[056] Por último, a avaliação da condutividade do Bombisan é medida em um condutímetro Tec-4MP. Soluções do biossurfactante isolado (Bombisan) ($\frac{1}{2}$ CMC (0,25g/L), 1CMC(0,5g/L) e 2 CMC(1g/L), foram adicionadas a soluções de um efluente sintético preparado com nitrato de chumbo e nitrato de cádmio, separadamente, na concentração de 500 mg/L em água deionizada. O precipitado metal-biossurfactante é removido e a condutividade da solução medida (DAS et al., 2009).

REINVIDICAÇÕES

NOVO BIOPRODUTO (BOMBISAN) COM POTENCIAL DE APLICAÇÃO NA REMOÇÃO DE METAIS PESADOS

01. Obtenção de um novo bioproduto produzido por levedura a partir de meio de produção constituído por resíduos agroindustriais, com potencial de aplicação na remoção de metais pesados.
02. Produto de acordo com a reivindicação 1:
Caracterizado por ser um bioproduto com potencial de manter sua atividade após exposição a elevadas concentrações de NaCl, pH e temperaturas.
03. Produto de acordo com a reivindicação 1:
Caracterizado por ser um bioproduto aniônico de natureza polimérica.
04. Produto de acordo com a reivindicação 1:
Caracterizado por ser um bioproduto atóxico.
05. Produto de acordo com a reivindicação 1:
Caracterizado por ser um bioproduto com potencial de aplicação na remoção de metais pesados Chumbo, Ferro e Zinco contido em solos.
06. Produto de acordo com a reivindicação 1:
Caracterizado por ser um bioproduto com potencial de aplicação na remoção de metais pesados em efluentes contaminados com Cádmio e Chumbo.
07. Produto de acordo com a reivindicação 1:
Caracterizado por ser um novo bioproduto com potencial de uso em diversos setores industriais, em especial na remoção de metais pesados, na indústria de cosméticos, na indústria de petróleo e biorremediação de solos e efluentes contaminados.

FIGURAS**FIGURA 1**

Silva, R.R. Produção de biosurfactante e aplicação na remediação de ambientes cont...

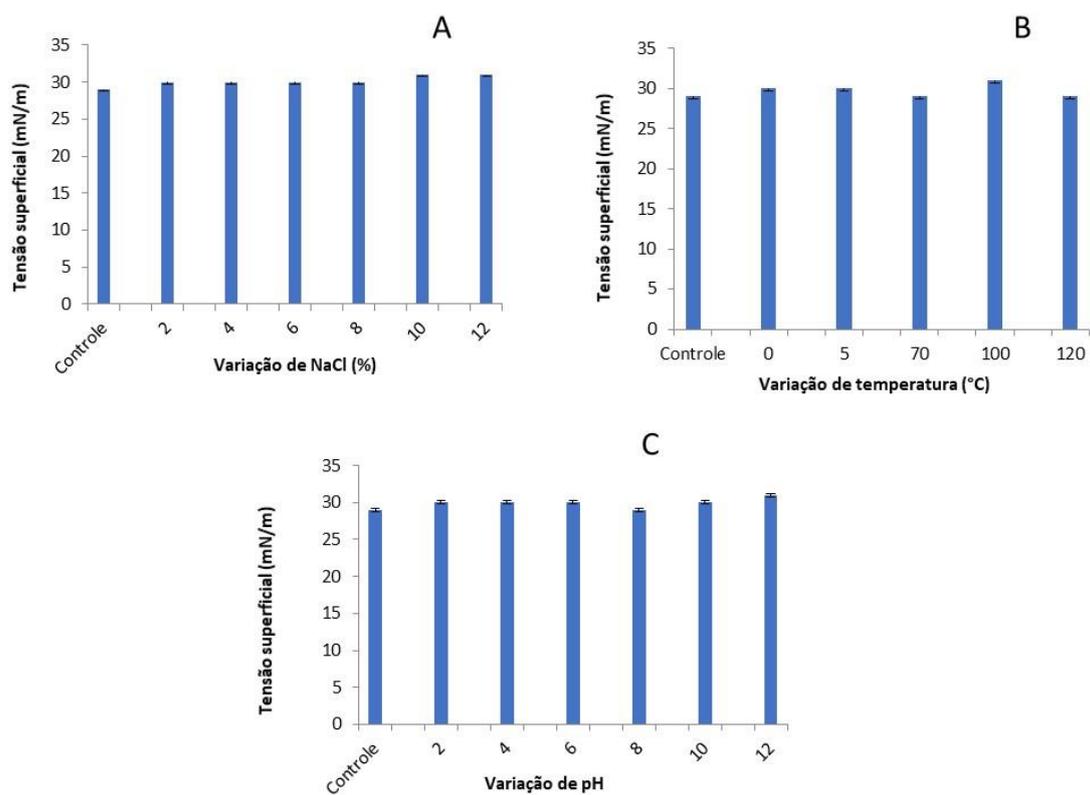


FIGURA 2

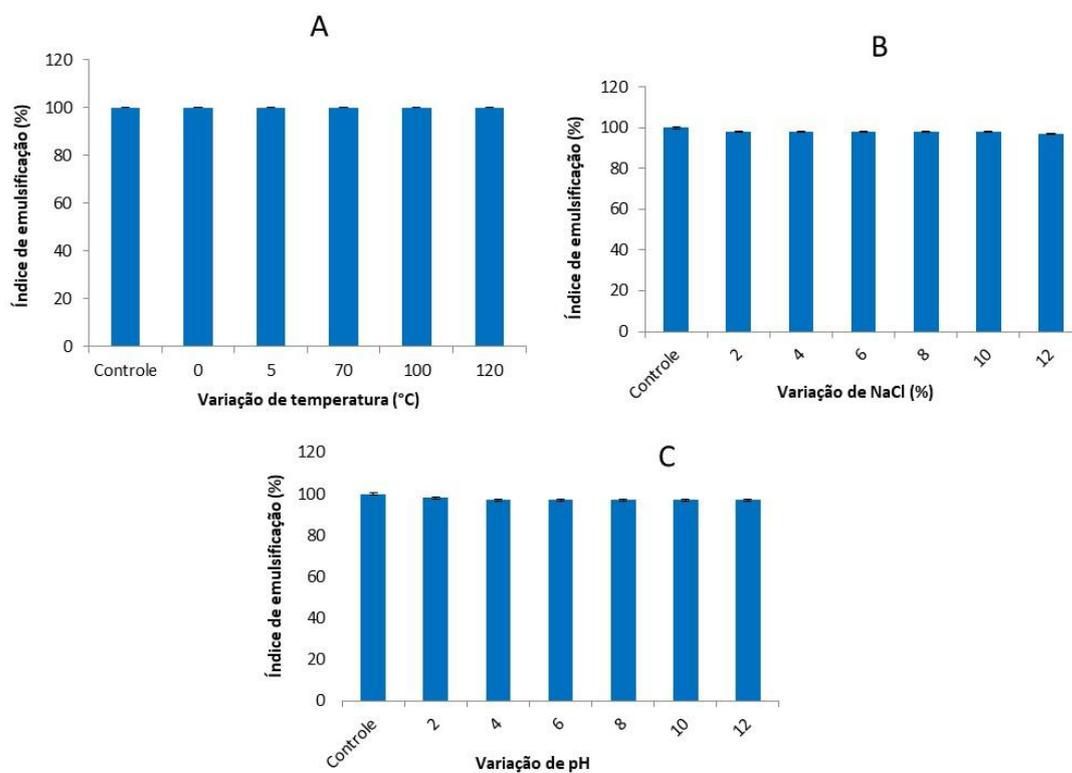
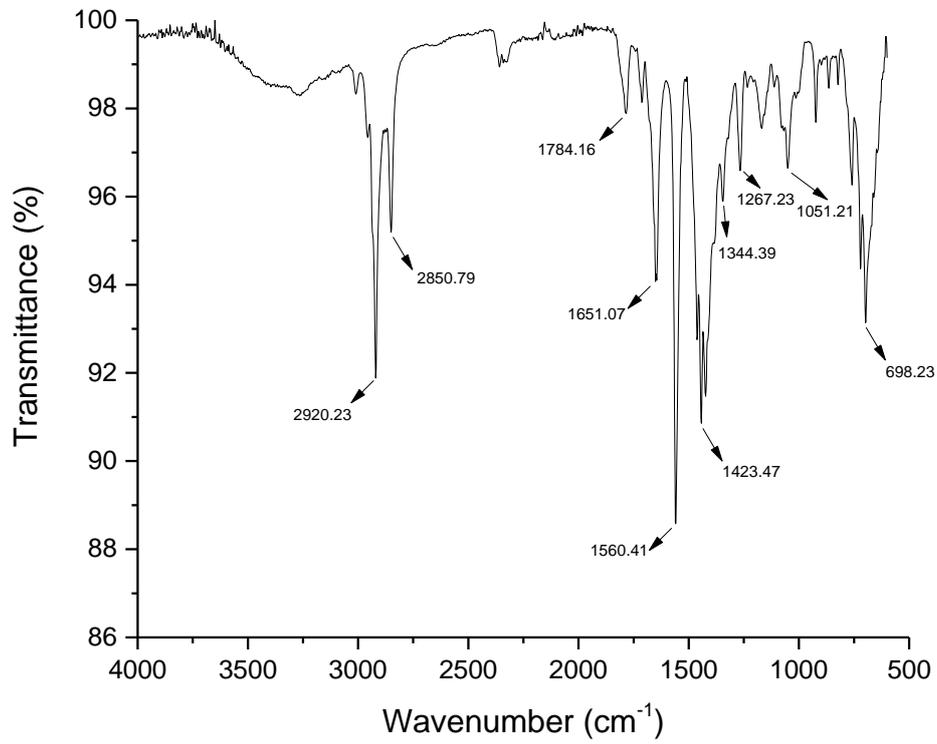


FIGURA 3

**FIGURA 4**

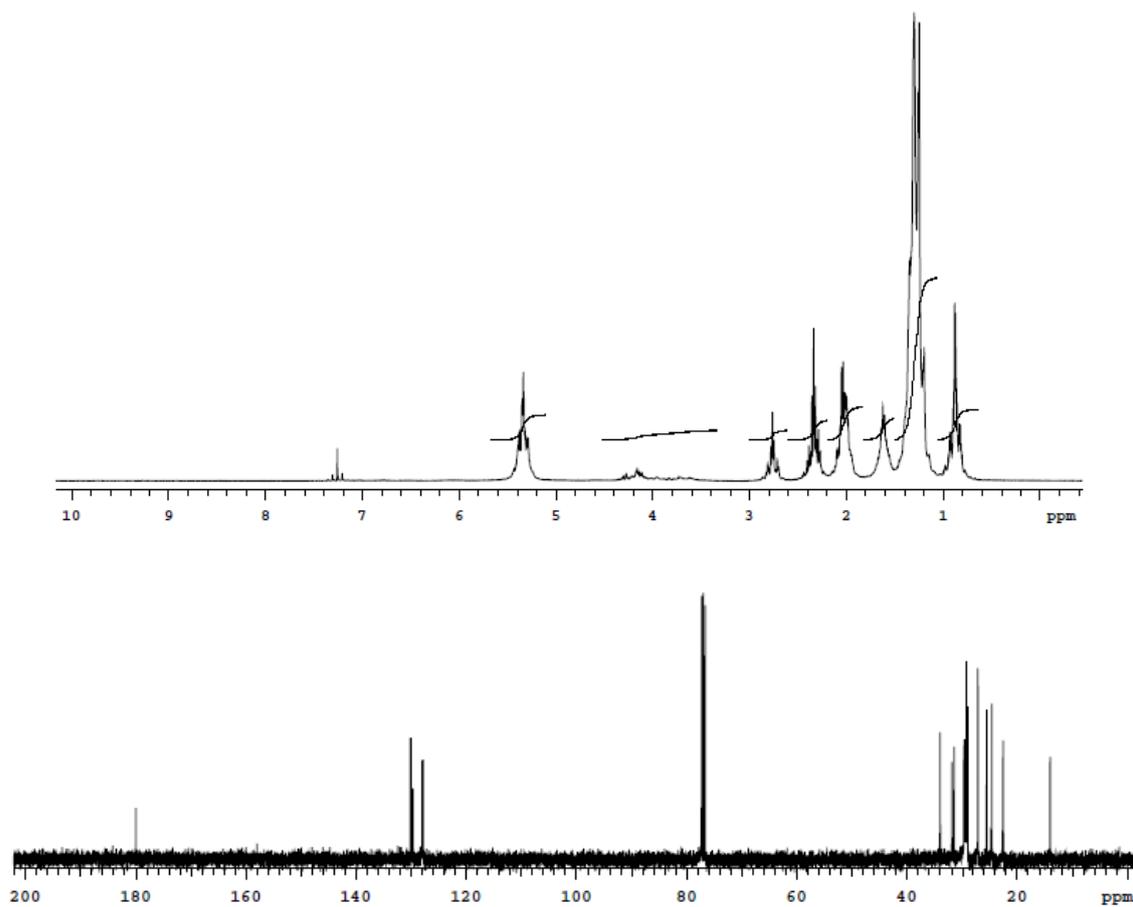


FIGURA 5



FIGURA 6

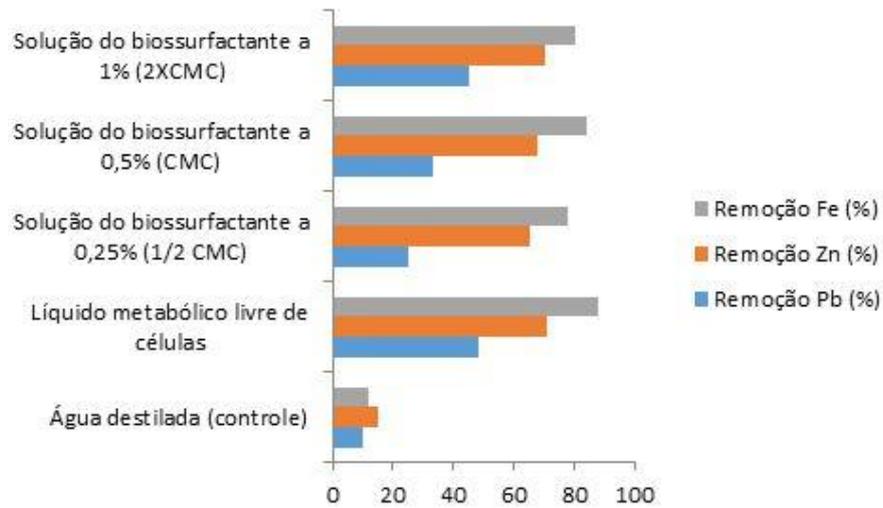


FIGURA 7

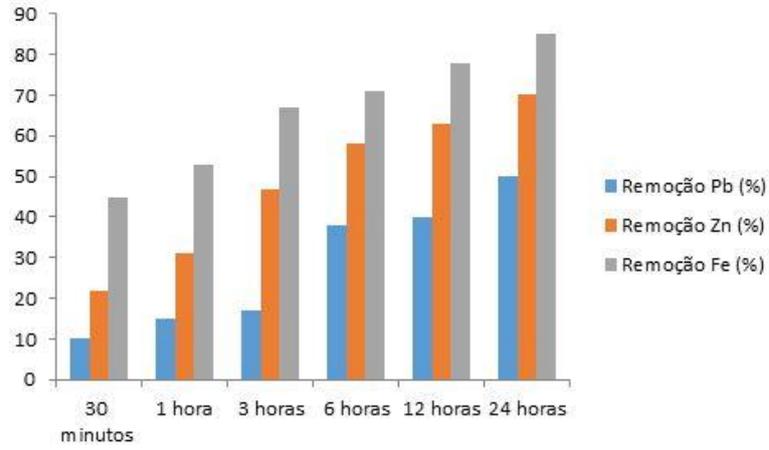
**FIGURA 8**

TABELA 1

Metal Pesado	Condutividade das soluções metálicas ($\mu\text{S}/\text{Cm}$)	Condutividade da solução após adição do bioproduto (Bombisan)		
		$\frac{1}{2}$ CMC	1x CMC	2 xCMC
Pb	670,3	382 \pm 1,2	387 \pm 1,1	407 \pm 1,6
Cd	512,4	360 \pm 1,4	366 \pm 1,2	392 \pm 1,1

CAPÍTULO IV

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os estudos realizados nesta pesquisa permitem as seguintes conclusões:

- Resíduos industriais podem ser usados como matérias-primas para a geração de produtos biotecnológicos de alto valor agregado.
- A levedura *C. bombicola* apresenta potencial como produtora de um agente surfactante efetivo em termos de atividade tensoativa e emulsificante.
- O biossurfactante demonstrou estabilidade frente a condições extremas de temperatura, pH na presença de NaCl.
- O biossurfactante é atóxico frente a sementes vegetais de *Lactuca sativa*.
- O biossurfactante bruto apresenta potencial de remoção de metais pesados adsorvidos em solos, o qual representa uma redução de cerca de 60 % do custo total da produção.
- Os biossurfactantes bruto e isolado foram eficientes na remoção de Pb, Fe, Zn sob condições dinâmicas e estáticas.
- O biossurfactante bruto apresenta rápida ação na captura dos metais pesados, demonstrando perspectivas de aplicação industrial.
- O biossurfactante apresenta capacidade de complexar cátions metálicos em soluções aquosas, sugerindo o potencial desse agente como coadjuvante dos processos de remediação de efluentes poluídos por metais pesados.

ANEXOS



13/03/2022 870220021206
09:30
29409161947264027

Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT

Número do Processo: BR 10 2022 004610 7

Dados do Depositante (71)

Depositante 1 de 1

Nome ou Razão Social: UNIVERSIDADE CATÓLICA DE PERNAMBUCO

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica

CPF/CNPJ: 10847721000195

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Jurídica: Instituição de Ensino e Pesquisa

Endereço: Rua do Príncipe, 526 - Boa Vista

Cidade: Recife

Estado: PE

CEP: 50050-900

País: Brasil

Telefone: 81 21194088

Fax:

Email: propesp@unicap.br

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Petição Eletrônica em 13/03/2022 às 09:30, Petição 870220021206

Dados do Pedido

Natureza Patente: 10 - Patente de Invenção (PI)**Título da Invenção ou Modelo de** PROCESSO DE PRODUÇÃO DE BIOSSURFACTANTE POR**Utilidade (54):** Candida bombicola**Resumo:** A utilização dos biossurfactantes desperta grande interesse industrial em função da diversidade de estruturas e produção a partir de fontes renováveis. A presente invenção descreve o processo para obtenção de biossurfactante por Candida bombicola. O processo é realizado em escala de bancada, por fermentação aeróbia, utilizando o meio de cultura constituído por melaço, milhocina e óleo de soja residual como matéria prima renovável, durante 144 horas a 28 °C a 200 rpm. O biossurfactante obtido, denominado Bombisan, apresenta capacidade de redução da tensão superficial para 25 mN/m, uma Concentração Micelar Crítica de 0,5 g/L e um excelente rendimento de 16 g/L, o que o faz capaz de concorrer com os surfactantes químicos atualmente disponíveis no mercado.**Figura a publicar:** 1

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em 13/03/2022 às 09:30, Petição 870220021206



13/03/2022 870220021207
09:34
29409161947264116

Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT

Número do Processo: BR 10 2022 004611 5

Dados do Depositante (71)

Depositante 1 de 1

Nome ou Razão Social: UNIVERSIDADE CATÓLICA DE PERNAMBUCO

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica

CPF/CNPJ: 10847721000195

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Jurídica: Instituição de Ensino e Pesquisa

Endereço: Rua do Príncipe, 526 - Boa Vista

Cidade: Recife

Estado: PE

CEP: 50050-900

País: Brasil

Telefone: 81 21194088

Fax:

Email: propesp@unicap.br

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Petição Eletrônica em 13/03/2022 às 09:34, Petição 870220021207

Dados do Pedido

Natureza Patente: 10 - Patente de Invenção (PI)

Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54): NOVO BIOPRODUTO (BOMBISAN) COM POTENCIAL DE APLICAÇÃO NA REMOÇÃO DE METAIS PESADOS

Resumo: O interesse industrial pelos surfactantes de origem microbiana tem se intensificado nos últimos tempos em função das características desses compostos, como biodegradabilidade, toxicidade reduzida e da eficiência destes na remoção de metais pesados e compostos orgânicos hidrofóbicos em solos e águas. A presente invenção trata de um novo bioproduto (Bombisan), biodegradável e obtido por levedura a partir de resíduos industriais. O Bombisan apresenta alta capacidade emulsificante, estabilidade em ampla faixa de pH (2-12), temperatura (0, 5, 70 100 e 120 °C) e salidade (2-12), além da capacidade de remoção de metais pesados em solo e efluentes contaminados. O Bombisan foi caracterizado como uma molécula aniônica e polimérica, composto por carboidratos, lipídeos e proteínas. O biossurfactante não apresentou toxicidade, demonstrou excelentes resultados na remoção de metais pesados Fe, Zn e Pb em solo contaminado sob condições dinâmicas. Testes em colunas empacotadas também confirmaram a capacidade do biossurfactante na remoção de Fe, Zn e Pb sob condições estáticas. Devido a essas características, o biossurfactante obtido pode ser empregado na descontaminação de águas e solos contaminados por metais pesados e na recuperação avançada de petróleo.

Figura a publicar: 1

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Petição Eletrônica em 13/03/2022 às 09:34, Petição 870220021207