



**UNIVERSIDADE CATÓLICA DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO
COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU*
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DESENVOLVIMENTO DE
PROCESSOS AMBIENTAIS- MESTRADO**

ELANNIE SALVINA COSTA DA SILVA

**PRODUÇÃO DE BIOSSURFACTANTE POR
MICRO-ORGANISMO UTILIZANDO
RESÍDUOS PROVENIENTES DE AMBIENTE
UNIVERSITÁRIO**

Recife

2026

ELANNIE SALVINA COSTA DA SILVA

**PRODUÇÃO DE BIOSSURFACTANTE POR
MICRO-ORGANISMO UTILIZANDO RESÍDUOS
PROVENIENTES DE AMBIENTE
UNIVERSITÁRIO**

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 de Processos Ambientais

Linha de Pesquisa: Biotecnologia e Meio Ambiente

Orientadora: Profa. Dra. Raquel Diniz Rufino

Co-orientadora: Profa. Dra. Leonie Asfora Sarubbo

**Recife
2026**

Ficha Catalográfica

S586p Silva, Elannie Salvina Costa da.
 Produção de biossurfactante por micro-organismo
 utilizando resíduos provenientes de ambiente universitário
 / Elannie Salvina Costa da Silva, 2026.
 94 f. : il.

 Orientador(a): Raquel Diniz Rufino.
 Coorientador(a): Leonie Asfora Sarubbo.
 Mestrado (Dissertação) - Universidade Católica de
 Pernambuco. Programa de Pós-graduação em
 Desenvolvimento de Processos Ambientais. Mestrado
 em Desenvolvimento de Processos Ambientais, 2026.

 1. Biotecnologia. 2. Biossurfactantes. 3. Biorremediação.
 4. Microorganismos. 5. Candida glabrata.
 6. Resíduos agroindustriais. I. Título.

CDU 574.6

Luciana Vidal - CRB-4/1338

PRODUÇÃO DE BLOSSURFACTANTE POR MICRO-ORGANISMO UTILIZANDO RESÍDUOS PROVENIENTES DE AMBIENTE UNIVERSITÁRIO

ELANNIE SALVINA COSTA DA SILVA

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 **RAQUEL DINIZ RUFINO**
Data: 01/03/2026 20:58:31-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

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

Documento assinado digitalmente
 **JULIANA MOURA DE LUNA**
Data: 02/03/2026 12:23:26-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

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

Documento assinado digitalmente
 **FABIOLA CAROLINA GOMES DE ALMEIDA**
Data: 03/03/2026 17:38:35-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Profa. Dra. Fabíola Carolina Gomes De Almeida
Instituto Avançado De Tecnologia E Inovação- (IATI)

Defendida em: ____/____/____

Coordenador (a): Prof. Dr. Juliana Moura de Luna

DEDICATORIA

A Deus.

Aos meus pais Joseane Silva e Emanuel Silva e aos meus irmãos Edller Silva e Maria Esmeralda Silva.

Ao meu namorado Gabriel Menezes.

A minha orientadora, Raquel Diniz Rufino.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, que nos momentos mais difíceis sempre me deu forças, renovou minha esperança e fez com que eu acreditasse em mim mesma para correr atrás dos meus sonhos.

À minha família, por sempre acreditarem no meu potencial. Em especial, aos meus pais e irmãos: vocês foram essenciais durante toda essa jornada. Serei eternamente grata por todo apoio e confiança.

À minha orientadora, Profa. Dra. Raquel Diniz Rufino, agradeço imensamente pela oportunidade, pelo incentivo constante, pela confiança no meu trabalho e por todo suporte ao longo da pesquisa. Muito obrigada.

À minha coorientadora, Profa. Dra. Leonie Asfora Sarubbo, agradeço pela atenção, suporte e disponibilidade.

Ao meu namorado, Gabriel Menezes, por estar sempre ao meu lado, me apoiando e incentivando a correr atrás dos meus sonhos. Sua presença foi fundamental.

Aos meus amigos Rayanne Simões, João Vitor Chagas e Marcella Marinho, sou grata por todos esses anos de amizade, pelo apoio constante e por sempre acreditarem em mim.

Aos meus colegas de pesquisa Pollyana Nascimento, Julia Queiroz, Priscylla Lima, Thiago Cruz e Emanuel Romeo, agradeço pela atenção, pelas trocas e pelo incentivo ao longo do percurso.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento de Processos Ambientais, pelo suporte, incentivo e por todo conhecimento compartilhado.

Ao técnico do laboratório, Lucas Rocha, pela assistência dedicada durante a realização da pesquisa.

À FACEPE, pela concessão da bolsa, que tornou possível a execução deste trabalho.

Por fim, agradeço especialmente à Banca Examinadora, composta pela Profa. Dra. Juliana Moura de Luna e pela Profa. Dra. Fabíola Carolina Gomes de Almeida, por terem aceitado o convite e contribuído com esta etapa tão importante.

Esta dissertação de mestrado não poderia ter sido concluída sem a presença de cada um de vocês. Obrigada!

RESUMO

A crescente geração de resíduos agroindustriais é um desafio ambiental e econômico, mas também uma oportunidade para bioprocessos sustentáveis, podendo ser utilizados como substratos de baixo custo na produção de biomoléculas microbianas. Diante disso, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial do biossurfactante microbiano produzido a partir de resíduos alternativos proveniente de ambiente universitário com a finalidade na aplicação em processos de remoção de óleo de motor adsorvido em solo arenoso. Sendo assim, os experimentos foram divididos em duas etapas, para a realização da produção do biossurfactante pela levedura *Candida glabrata* UCP 1002, utilizando o bagaço de malte e óleo de fritura residual, como substratos. Na primeira etapa, foram realizadas a determinação da tensão superficial, bem como a estabilidade da atividade de emulsificação para o biossurfactante produzido, para condições extremas de pH, temperatura e diferentes concentrações de NaCl. Na segunda etapa, foi realizado um planejamento fatorial de 2^3 , para otimizar as condições de produção. As variáveis independentes foram as diferentes concentrações dos resíduos, tendo como variável resposta a avaliação da tensão superficial. A partir do ensaio selecionado, foram realizadas as análises de Concentração Micelar Crítica (CMC), caracterização química do biossurfactante através do RMN e FTIR, o teste de toxicidade com raízes de *Allium cepa* e a análise do potencial de remoção do óleo de motor (pós uso) adsorvido em solo arenoso. Os resultados demonstraram uma redução da tensão superficial de 31 mN/m, além de apresentar alta eficiência de estabilidade nas condições extremas de pH, temperatura e NaCl, atingindo valores máximos de 70% a 80% nas condições de NaCl, 60% e 71% nas condições de pH e 66% e 92% na condição de temperatura, para os óleos de motor e de soja. Os resultados obtidos pelo planejamento fatorial 2^3 , demonstraram que o ensaio 2 apresentou uma tensão superficial de 36 mN/m. Sendo avaliada a mesma condição para a atividade de emulsificação os valores de emulsificação foram de 46% para óleo de soja e 87% para óleo de motor. A CMC foi de 0,2 g/L, confirmando alto poder tensoativo. O biossurfactante apresentou natureza glicolípídica, compatível com os de interesse industrial. O teste de toxicidade com raízes da cebola *Allium cepa* confirmaram que as concentrações do biossurfactante produzido não deteriora as células das raízes, como também não apresenta surgimento de micronúcleos, sendo um composto seguro ecologicamente. Ademais, ensaios em solo arenoso contaminado com óleo de motor (pós uso) demonstraram alta eficiência na remoção do poluente em condições estáticas e dinâmicas, obtendo valores de 47% a 53% para o teste estático e valores de 98% a 99% para os testes dinâmicos. Após essa análise foram escolhidas duas amostras com melhores percentuais de remoção para o teste estático 53.4% e para o teste dinâmico 99.8%. Sendo assim, pode-se concluir que os resíduos utilizados se mostram como alternativa sustentável, de baixo custo e inovadora para a produção de biossurfactante microbiano.

Palavra-chave: Biossurfactante. Biorremediação. *Candida glabrata*. Resíduos Agroindustriais.

ABSTRACT

The increasing generation of agro-industrial waste is an environmental and economic challenge, but also an opportunity for sustainable bioprocesses, as it can be used as low-cost substrates in the production of microbial biomolecules. Therefore, the present study aimed to evaluate the potential of a microbial biosurfactant produced from alternative waste from a university environment for application in processes to remove engine oil adsorbed on sandy soil. Thus, the experiments were divided into two stages for the production of the biosurfactant by the yeast *Candida glabrata* UCP 1002, using malt bagasse and residual frying oil as substrates. In the first stage, the surface tension was determined, as well as the stability of the emulsification activity for the biosurfactant produced under extreme conditions of pH, temperature, and different concentrations of NaCl. In the second stage, a 2³ factorial design was carried out to optimize production conditions. The independent variables were the different concentrations of the residues, with the evaluation of surface tension as the response variable. From the selected assay, analyses of the Critical Micelle Concentration (CMC), chemical characterization of the biosurfactant through NMR and FTIR, the toxicity test with *Allium cepa* roots, and the analysis of the removal potential of engine oil (post-use) adsorbed on sandy soil were performed. The results showed a reduction in surface tension of 31 mN/m, in addition to high stability efficiency under extreme conditions of pH, temperature, and NaCl, reaching maximum values of 70% to 80% under NaCl conditions, 60% and 71% under pH conditions, and 66% and 92% under temperature conditions, for engine oil and soybean oil, respectively. The results obtained from the 2³ factorial design showed that assay 2 presented a surface tension of 36 mN/m. Evaluating the same condition for emulsification activity, the emulsification values were 46% for soybean oil and 87% for engine oil. The CMC was 0.2 g/L, confirming high surfactant power. The biosurfactant exhibited a glycolipid nature, compatible with those of industrial interest. The toxicity test with *Allium cepa* onion roots confirmed that the concentrations of the produced biosurfactant do not damage root cells, nor do they show the appearance of micronuclei, making it an ecologically safe compound. Furthermore, assays on sandy soil contaminated with engine oil (post-use) demonstrated high efficiency in pollutant removal under static and dynamic conditions, obtaining values from 47% to 53% for the static test and values from 98% to 99% for the dynamic tests. After this analysis, two samples with the best removal percentages were chosen: 53.4% for the static test and 99.8% for the dynamic test. Therefore, it can be concluded that the residues used prove to be a sustainable, low-cost, and innovative alternative for the production of microbial biosurfactant.

Keywords: Biosurfactant. Bioremediation. *Candida glabrata*. Agro-industrial Waste.

SUMÁRIO

CAPÍTULO I

1 INTRODUÇÃO.....	15
2 OBJETIVO.....	17
2.1 Objetivo Geral.....	17
2.2 Objetivo Especifico.....	17
3 REVISÃO DA LITERATURA.....	18
3.1 Sufactante.....	18
3.2 Biossurfactante.....	19
3.3 Classificação.....	20
3.4 Propriedades e características do biossurfactante.....	21
3.5 Micro-organismos produtores.....	23
3.6 Resíduos industriais aplicados à produção de biossurfactantes.....	25
3.6.1 Fatores que influenciam a produção.....	28
3.6.2 Fonte de carbono.....	28
3.6.3 Fonte de nitrogênio.....	30
3.6.4 Condições de crescimento.....	31
3.7 Aplicações ambientais do biossurfactante.....	32
3.7.1 Contaminação por pretroderivados.....	33
3.7.2 Biorremediação.....	34
3.7.3 Remoção de óleo no solo.....	38
4. REFERENCIAS.....	39

CAPÍTULO II

ARTIGO I: PRODUÇÃO DE BIOSSURFACTANTE POR *Candida glabrata*

Resumo.....	50
Introdução.....	51
Materiais e Métodos.....	52
Resultados e Discussão.....	53
Conclusão.....	55
Referências Bibliográficas.....	55

CAPÍTULO III

ARTIGO II: PRODUÇÃO DE BIOSSURFACTANTE POR MICRO-ORGANISMO UTILIZANDO RESÍDUOS PROVINIENTES DE AMBIENTE UNIVERSITÁRIO

Resumo.....	58
Abstract.....	59
Introdução.....	60
Materiais e Métodos.....	61
Resultados e Discussão.....	67
Conclusão.....	82
Referencias.....	82

CAPÍTULO IV

CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	86
----------------------------------	-----------

ANEXOS.....	87
--------------------	-----------

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

- Figura 1- Representação estrutural de um surfactante..... 18
- Figura 2- Etapas da redução da tensão superficial devido à adição de surfactante até atingir a CMC e formação de micelas..... 22
- Figura 3- Produção de biossurfactantes microbianos a partir de resíduos agroindustriais: vantagens, desvantagens e aplicações..... 26
- Figura 4- Imagem ilustrativa da ação do biossurfactante sobre o petróleo..... 35

CAPÍTULO II

- Figura 1- Determinação da estabilidade do biossurfactante produzido por *Candida glabrata* para óleo de motor e óleo de soja..... 54
- Figura 2- Determinação da estabilidade do biossurfactante produzido por *Candida glabrata* para óleo de motor e óleo soja..... 54

CAPÍTULO III

- Figura 1: Gráfico de Pareto com variáveis que apresentam influencia na redução da tensão superficial por *Candida glabrata* UCP 1002 em cultivo estatístico, ao nível de significância de 95%..... 68
- Figura 2: Determinação do IE (Índice de emulsificação) do biossurfactante produzido por *Candida glabrata* UCP 1002, formulado com 10g/L de bagaço de malte e 100 g/L de óleo de algodão residual, em óleo de motor e soja..... 70
- Figura 3: Espectro FT-IR do biossurfactante produzido por *C. glabrata* UCP 1002 cultivada em meio contendo 10 g/L de bagaço de malte e 100 g/L de óleo de algodão residual..... 71
- Figura 4: RMN de H do biossurfactante produzido por *C. glabrata* UCP 1002 cultivada em meio contendo 10 g/L de bagaço de malte e 100 g/L de óleo de algodão residual..... 72

Figura 5: RMN de Carbono do biossurfactante produzido por *C. glabrata* UCP 1002 cultivada em meio contendo 10 g/L de bagaço de malte e 100 g/L de óleo de algodão residual..... 73

Figura 5: Imagens de microscopia óptica (aumento: 40×) de lâminas de raiz de cebola (*Allium cepa*) expostas a formulações contendo um biossurfactante isolado de *Candida glabrata* UCP 1002 em diferentes concentrações: (A) água destilada (controle); (B) CMC 0,2 g/L; (C) $\frac{1}{2}$ CMC (0,01 g/L); (D) $2 \times$ CMC (0,4 g/L); (E) Sufactante químico..... 74

Figura 6: Resultado de remoção do hidrocarboneto no solo arenoso em teste cinético com intervalo de tempo de até 48h..... 81

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1- Classificação dos biossurfactantes e microrganismos produtores.....	20
Tabela 2- Principais leveduras produtoras de biossurfactantes.....	24
Tabela 3- Resíduos utilizados para produção de biossurfactantes.....	26
Tabela 4- Biossurfactantes, micro-organismos produtores e suas aplicações na biorremediação de ambientes contaminados com óleo.....	36

CAPÍTULO III

Tabela 1- Matriz do delineamento experimental, das variáveis independentes nos níveis -1, +1 e ponto central.....	63
Tabela 2- Valores das variáveis independentes do planejamento fatorial -1, +1 e ponto central.....	63
Tabela 3- Valores das variáveis independentes do planejamento fatorial nos níveis -1, +1 e no ponto central. Variável resposta: tensão superficial após 144 horas de cultivo.....	68
Tabela 4- Granulometria, consistência, compactação e classificação unificada do solo arenoso natural testado.....	77
Tabela 5- Tabela 5: Caracterização química do solo arenoso natural testado.....	77
Tabela 6- Remoção de hidrocarboneto presente no solo arenoso pelo teste estático.....	79
Tabela 7- Remoção de hidrocarboneto presente no solo arenoso pelo teste dinâmico.....	79

CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO

O setor agroindustrial desempenha um papel fundamental no mercado, tendo em vista, que seus produtos gerados impactam diretamente na economia de um país. No entanto, essas indústrias geram um grande percentual de resíduos, especialmente os do setor de alimentos e bebidas. Como no caso das cervejeiras, cujo o principal resíduo é o bagaço de malte e o óleo residual de fritura no setor alimentício (Silva *et al.*, 2024; Brunatti *et al.*, 2025).

A ausência de um manejo adequado para o descarte seguro e sustentável desses resíduos provoca impactos negativos ao meio ambiente. Diante disso, a busca incessante por alternativas que valorizem resíduos agroindústrias, transformando-os em subprodutos de alto valor agregado, tornando-se prioridade nas cadeias produtivas, incorporando sustentabilidade aos processos. Nesse contexto, a biotecnologia vem como uma alternativa crucial para reduzir esses resíduos, oferecendo soluções inovadoras e sustentáveis (Silva *et al.*, 2025).

Como por exemplo, a aplicação desses resíduos na produção de biossurfactantes microbianos. Resíduos como o óleo residual de fritura e o bagaço de malte são ricos em lignina, fibras, proteínas polissacarídeos, celulose e triglicerídeos (Silva *et al.*, 2021; Nascimento *et al.*, 2025). Sendo resíduos ricos em carboidratos ou lipídeos, com adequada relação carbono/nitrogênio, obtendo micronutrientes essenciais para o metabolismo microbiano (Silva *et al.*, 2023).

Desse modo, a utilização desses resíduos na área biotecnológica, em especial na produção de biossurfactantes, pode reduzir significativamente os custos de produção, já que esses resíduos são gerados em larga escala e são amplamente disponíveis. Portanto, é esse processo torna-se fundamental para desenvolver métodos que viabilizem o uso de matérias-primas mais acessíveis (fontes renováveis e resíduos industriais), a fim de tornar os surfactantes “verdes” mais competitivos no mercado (Marinho *et al.*, 2022).

No entanto, o principal desafio nessa abordagem é a seleção de substratos com um equilíbrio nutricional adequado, que sustentem tanto o crescimento celular quanto a síntese eficiente do composto de interesse. (Marinho *et al.*, 2022; Durán *et al.*, 2020). Portanto, a escolha de resíduos adequados é essencial, para a produção

de biossurfactante, principalmente os microbianos, no qual, necessitam de propriedades nutricionais específicas e fundamentais para o processo fermentativo (Guedes *et al.*, 2021).

Presumindo, que os biossurfactantes são moléculas anfifílicas que constituem uma das principais classes de surfactantes naturais, produzidos por uma diversidade de micro-organismos como bactérias, fungos e leveduras (Candido *et al.*, 2024).

De acordo com a literatura, alguns micro-organismos, como as leveduras, vêm sendo explorado para a produção de biossurfactantes. Algumas são grandes produtores de compostos biológicos ativos, no qual, se destaca os soforolipídios sintetizados pela *Candida*, possuindo um grande potencial em aplicações industriais, graças às suas propriedades emulsificantes, elevada biodegradabilidade e baixa toxicidade, (Aslam *et al.*, 2024).

Diferente da maioria dos surfactantes químicos (sintetizados a partir de derivados do petróleo), apresentando toxicidade e não sendo biodegradáveis. São fatores que influenciam na busca por alternativas menos nocivas ao ambiente, como os biossurfactantes (Candido *et al.*, 2024).

Diante do exposto, o principal objetivo do presente trabalho é estudar a produção de biossurfactante microbiano, a partir de resíduos alternativos provenientes de ambiente universitário e aplicação em processos de remoção de óleo de motor adsorvido em solo arenoso.

2. OBJETIVO

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a produção de biossurfactante microbiano a partir de resíduos alternativos proveniente de ambiente universitário e aplicação em processos de remoção de óleo de motor adsorvido em solo arenoso.

2.2 Objetivos Especificos

- Produzir o biossurfactante utilizando resíduos (bagaço de malte e óleo de fritura residual) provenientes de ambiente universitário da Universidade Católica de Pernambuco.
- Determinar as propriedades tensoativas e emulsificantes do biossurfactante.
- Avaliar a estabilidade do biossurfactante formulado frente a condições específicas de pH, temperatura e salinidade.
- Caracterizar o biossurfactante e determinar a estrutura química do biossurfactante.
- Avaliar a toxicidade do biossurfactante.
- Caracterizar físico-quimicamente o solo contaminado por derivado de petróleo.
- Avaliar o percentual de remoção do contaminante derivado do petróleo.

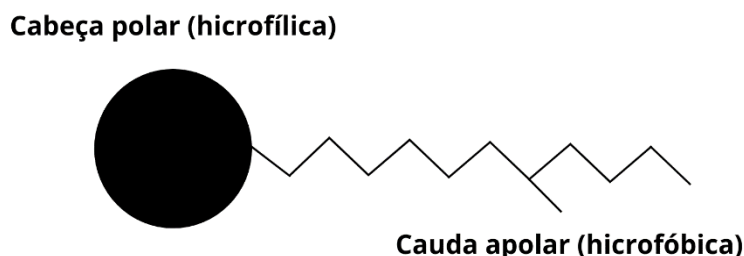
3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Sufactantes

Os surfactantes são compostos químicos que possuem estrutura anfipática, composta por porções hidrofílicas e hidrofóbicas (ou lipofílicas). Essa característica estrutural permite a capacidade de formar estruturas organizadas, como micelas e bicamadas, essenciais para sua atividade funcional. A porção hidrofílica, geralmente denominada "cabeça", é solúvel em água, enquanto a porção hidrofóbica, conhecida como "cauda", é composta por uma ou mais cadeias de hidrocarbonetos (Figura 1), cujo comprimento pode variar conforme o tipo de surfactante (Santos *et al.*, 2021)

A eficiência de um surfactante pode ser avaliada por diversas maneiras, como sua capacidade de auto associação na formação de micelas, diretamente relacionada à concentração micelar crítica (CMC), como a capacidade de solubilização de hidrocarbonetos em água, lubrificação, emulsificação, ação superficial diminuindo a tensão superficial, dentre outras (Otzen, 2017; Marinho *et al.*, 2022).

Figura 1: Representação esquemática de um surfactante



Fonte: Autoria própria

Os surfactantes sintéticos possuem uma grande importância comercial, sendo muito evidente diante da expansão contínua do mercado, devido a ampla variedade de aplicações industriais desses compostos. Essas aplicações industriais são classificadas de acordo com seus usos: 54% como detergentes, 13% nas indústrias têxteis, de couro e de papel, 10% em processos químicos, outros 10% nas indústrias

farmacêutica e de cosméticos, 3% na indústria de alimentos, 2% na agricultura e os 2% restantes em outras aplicações (Silva *et al.*, 2022).

Tendo em vista, que a maior parte dos surfactantes disponíveis no mercado é obtida por meio da síntese química a partir de derivados do petróleo. Ocasionalmente uma preocupação ambiental por parte dos consumidores, atrelado a isso ocorre o avanço das legislações voltadas à proteção ambiental, no qual, tem impulsionado a busca por biossurfactantes como alternativas mais sustentáveis aos produtos convencionais (Sarubbo *et al.*, 2022). Muitos estudos consideram que esses compostos têm uma grande associação com poluentes e efeitos adversos, toxicidade para organismos aquáticos inibição de enzimas biológicas (Nagtode *et al.*, 2023).

3.2 Biossurfactante

Os biossurfactantes são moléculas anfipáticas que apresentam propriedades tensoativas semelhantes às dos surfactantes derivados do petróleo, porém com vantagens significativas, como menor toxicidade, elevada biodegradabilidade e possibilidade de produção a partir de fontes renováveis, como bactérias (Vieira *et al.*, 2021). Os biossurfactantes apresentam diferentes graus de polaridade, como por exemplo emulsificadores de hidrocarbonetos. Obtendo a capacidade de reduzir a tensão superficial e favorecer a formação de emulsões, possibilitando que os hidrocarbonetos sejam solubilizados em água e tornando determinados compostos mais miscíveis.

Diante disso, os biossurfactantes vem tendo uma atenção maior devido as suas características promissoras, para os setores industriais. Considerando todas as características mencionadas anteriormente, os biossurfactantes possuem a capacidade de manter a sua estabilidade mesmo em condições extremas de pH, temperatura e salinidade (Datta *et al.*, 2024). Apesar das vantagens associadas ao seu uso, os biossurfactantes detêm uma pequena fatia de mercado em decorrência dos elevados custos da sua produção. Por tanto, é fundamental desenvolver processos que permitam a utilização de matérias-primas de menor custo, principalmente as provenientes de fontes renováveis e de resíduos industriais, além da otimização de meios de cultura, o aprimoramento de técnicas de extração e

purificação e a seleção de micro-organismos com maior produtividade (Marinho *et al.*, Sarubbo *et al.*, 2022).

3.3 Classificação

Os biossurfactantes são classificados de acordo com sua composição química e origem microbiana, podendo ser feita com base no seu tamanho molecular (Nascimento *et al.*, 2024). Esses compostos são divididos em dois grupos principais: os tensoativos de baixo peso molecular (ex: glicolipídeos, lipopeptídeos e fosfolipídios), eficazes na redução da tensão superficial; e os de alto peso molecular (ex.: lipoproteínas, lipopolissacarídeos e heteropolissacarídeos), que atuam como eficientes bioemulsificantes na estabilização de emulsões óleo/água, como demonstrado na Tabela 1 (Balakrishnan *et al.*, 2023; Drakontis; Amin, 2020).

Tabela 1: Classificação dos biossurfactantes e microrganismos produtores.

Baixo Peso Molecular	Classe/Tipos de Biossurfactantes	Micro-organismos
	Glicolipídeos	
	Ramnolipídeos	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	Soforolipídeos	<i>Candida bombicola</i> , <i>Candida apicola</i>
	Trehalolipídeos	<i>Rhodococcus erythropolis</i> , <i>Mycobacterium sp.</i>
	Lipopeptídeos e lipoproteínas	
	Peptídeo-lipídeo	<i>Bacillus licheniformis</i>
	Viscosina	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
	Serrawettin	<i>Serratia marcescens</i>
	Surfactina	<i>Bacillus subtilis</i>
	Subtilisina	<i>Bacillus subtilis</i>
	Gramicidina	<i>Bacillus brevis</i>
	Polymyxin	<i>Bacillus polymyxa</i>
	Ácidos graxos, lipídeos neutros e fosfolipídeos	
	Ácidos graxos	<i>Corynebacterium lepus</i>
	Lipídeos neutros	<i>Nocardia erythropolis</i>
	Fosfolipídeos	<i>Thiobacillus thiooxidans</i>

Surfactantes poliméricos

Emulsan	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
Biodispersan	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
Liposan	<i>Candida lipolytica</i>
Carboidrato-lipídeo-proteína	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
Mannan-lipídeo-proteína	<i>Candida tropicalis</i>

Surfactante particulado

Vesícula	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
----------	------------------------------------

Fonte: Marinho *et al.*, (2022)

3.4 Propriedades físico-químicas dos biossurfactantes

Observa-se que o desempenho de um biossurfactante é avaliado por meio de diversas propriedades físico-químicas, entre as quais se destacam a sua capacidade de reduzir a tensão superficial, ação emulsificante e espumante, baixa concentração micelar crítica, solubilidade e detergência. Tais propriedades são essenciais para identificar e selecionar linhagens microbianas promissoras para a produção desses agentes (Karlapudi *et al.*, 2018).

Com isso, nota-se que a tensão superficial é uma propriedade de compostos que apresentam uma grande importância, devido as suas características tensoativas, podendo ser definida como uma força a ser superada quando se deseja o aumento da superfície líquida em uma mistura de moléculas (Santos *et al.*, 2021).

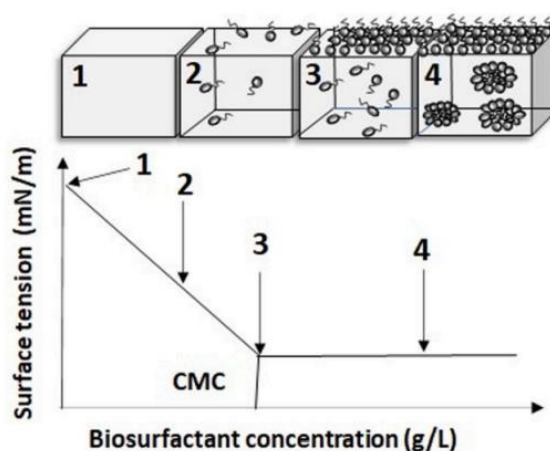
A capacidade de reduzir a tensão superficial e interfacial é uma propriedade fundamental de moléculas anfifílicas, sendo um requisito indispensável para a formação de emulsões cineticamente estáveis. De acordo com a sua natureza anfifílica, os biossurfactantes são capazes de adsorvem-se nas interfaces ar-líquido, líquido-líquido e sólido-líquido. Termodinamicamente, essa adsorção consegue reduzir a energia livre por unidade de área necessária para a criação de uma nova superfície, um valor diretamente associado à tensão superficial e interfacial (Santos *et al.*, 2021; Jahan *et al.*, 2020).

Sabe-se que a tensão superficial da água é de aproximadamente 72 mN/m. Já biossurfactante possui uma capacidade de redução significativa desse valor, obtendo

um declínio para a faixa de 30–40 mN/m, isso indica que o microrganismo seja promissor para produção desses compostos (Twigg *et al.*, 2021).

Outra característica é a concentração micelar crítica (CMC), que corresponde à concentração máxima de surfactante em solução aquosa no qual apresenta formação de micelas. Este parâmetro é um indicador fundamental da eficiência de um surfactante ou biossurfactante, uma vez que valores mais baixos de CMC estão associados a uma maior eficácia na redução da tensão superficial (Figura 2). Dessa forma, a CMC dos biossurfactantes (medida de sua eficiência) varia entre 1-2000 mg/L, enquanto a tensão interfacial (óleo/água) e superficial fica em torno de 1 e 30 mN/m respectivamente (Santos *et al.*, 2016). Portanto, o CMC de um surfactante determina suas possíveis aplicações, que seriam os processos industriais, alimentícios, farmacêuticos (sistemas de liberação de medicamentos), minerais e até na síntese de novos surfactantes.

Figura 2: Etapas da redução da tensão superficial devido à adição de surfactante até atingir a CMC e formação de micelas.



Fonte: Sarubbo *et al.*, (2022)

Os biossurfactantes possuem uma capacidade de manterem sua eficiência em ambientes com temperaturas extremas, ampla variação de pH e alta salinidade. Isso tem provocado um crescente interesse para sua aplicação comercial. Biossurfactante produzido pela *Candida bombicola*, apresenta em estudos uma excelente capacidade de redução a sua tensão superficial e emulsificação. De acordo com os resultados obtidos por Silva *et al.*, (2023), o biossurfactante produzido pela levedura obteve a capacidade de redução da tensão superficial, permanecendo estável com uma variação de 30 a 35 mN/m em relação

ao pH, de 30 a 31 mN/m em relação às concentrações de NaCl e de 29 a 31 mN/m em diferentes temperaturas. Quando submetido à atividade de emulsificação, o biossurfactante formulado permaneceu estável sob todas as variações de temperatura, atingindo 100% de emulsificação do óleo de motor; variou de 86% a 95% em relação a diferentes pHs e de 84 a 89% em relação às concentrações de NaCl. Tendo em vista, que a emulsificação é o processo de misturar dois líquidos que não se dissolvem (como óleo e água), criando uma dispersão instável. Sem um agente estabilizante, como um tensoativo, a emulsão se separa rapidamente em duas fases, formando uma interface. Biossurfactantes atuam como esses estabilizantes, adsorvendo-se na interface e impedindo a coalescência (Santos *et al.*, 2021).

3.5 Micro-organismos produtores

O rendimento e a eficiência da produção de biossurfactantes pode variar conforme o microrganismo produtor e seu habitat de origem. Esses microrganismos são amplamente distribuídos na natureza e podendo ser isolados de diversos ambientes, inclusive extremos (com condições elevadas de salinidade, temperatura e pH) (Silva *et al.*, 2024).

A diversidade de suas fontes e métodos ecologicamente sustentáveis de produção, é o que está associado ao potencial dos biossurfactantes. Tais compostos são metabolicamente sintetizados por diversos tipos de microrganismos, como bactérias, fungos filamentosos e leveduras, como parte natural do seu metabolismo e crescimento (Chabhadiya *et al.*, 2024).

Dentre as principais espécies e gêneros investigados, destacam-se: *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Arthrobacter*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Candida lipolytica*, *Candida bombicola*, dentre outras (Campos *et al.*, 2015).

Algumas linhagens de bactérias se destacam, como o *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas antarctica* e *Acinetobacter baumannii* (Vargas *et al.*, 2023; Ciurko *et al.*, 2023; Gupta *et al.*, 2020). Espécies de algumas leveduras, como *Candida glabrata*, *Yarrowia lipolytica* e *Rhodotorula mucilaginosa* (Lima *et al.* 2017; Barros *et al.*, 2024; Azevedo *et al.*, 2024). Uma vantagem relevante das leveduras é o status GRAS (Generally Recognized as Safe) de algumas espécies, garantindo uma segurança de

que o micro-organismo não é um patógeno e não apresenta toxicidade. Consequentemente, esses micro-organismos serão mais adequados para utilização no desenvolvimento de produtos biotecnológicos, como farmacêuticos e alimentícios (Marcelino *et al.*, 2020). Além das leveduras, algumas espécies de fungos filamentosos são amplamente aplicadas na produção de biossurfactante como *Aspergillus flavus* e *Curvularia lunata* (Ishaq *et al.*, 2015; Maciel *et al.*, 2024).

O cultivo desses micro-organismos em meios otimizados, contendo fontes de carbono e nitrogênio específicas, iram resulta na produção de uma variedade de metabólitos secundários com propriedades surfactantes (Qamar; Pacifico, 2023). Tendo como exemplo leveduras da espécie *Candida albicans* e *Starmerella bombicola*, espécies essas que possuem a capacidade de produzir biossurfacatante, como soforolipídios, obtendo um grande potencial na aplicação industrial (Silva *et al.*, 2024; Gaur *et al.*, 2019; Aslam *et al.*, 2024). A tabela 2 apresenta algumas das principais espécies de leveduras produtoras de biossurfactante.

Tabela 2: Principais leveduras produtoras de biossurfactantes.

Biossurfactante	Micro-organismos Produtores	Referências
Glicolipídios	<i>Starmerella bombicola</i> ATCC 22214	Elshafie <i>et al.</i> (2015)
	<i>Starmerella batistae</i>	Konishi <i>et al.</i> (2016)
	<i>Candida guilliermondii</i>	Kim <i>et al.</i> (2021)
	<i>Candida antártica</i>	Lira (2020)
	<i>Candida tropicalis</i>	Accorsini <i>et al.</i> (2012)
	<i>Trichosporon ashii</i>	Ribeaux (2020)
	<i>Pichia anômala</i>	Chandran e Das (2010)
	<i>Ustilago maydis</i>	Thaniyavarn <i>et al.</i> (2008)
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Alejandro <i>et al.</i> (2011)
Lipopeptídios e Lipoproteínas		Ribeiro <i>et al.</i> (2020)
	<i>Yarrowia lipolytica</i>	Alejandro <i>et al.</i> (2011)
	<i>Candida glabrata</i>	Lima <i>et al.</i> (2017)

Fosfolipídios	<i>Candida sp. SY16</i>	Kim <i>et al.</i> (2006)
Polimérico	<i>Candida lipolytica</i>	Sarubbo <i>et al.</i> (2007)
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Saha e Rao (2017)
	<i>Candida tropicalis</i>	Saha e Rao (2017)

Fonte: Nascimento *et al.* (2024)

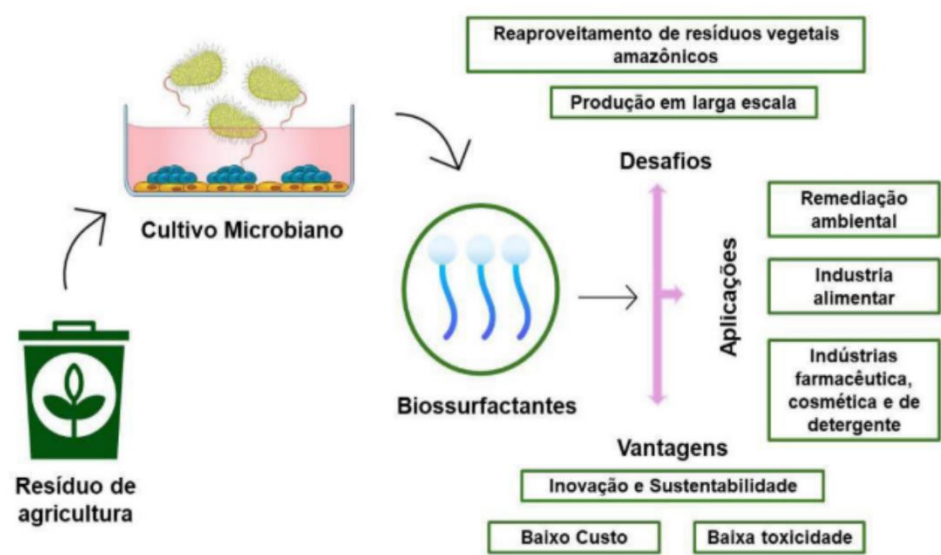
Algumas espécies de bactérias como *Pseudomonas syringa* e *Bacillus velezensis* S2, que têm apresentado excelentes resultados na produção de tensoativos e emulsificantes naturais da classe dos ramnolipídios (Faccioli *et al.*, 2022; Sultana *et al.*, 2024).

3.6 Resíduos industriais aplicados à produção de biossurfactantes

Recentemente, tem-se observado um crescente interesse na utilização de matérias-primas mais econômicas e sustentáveis para a produção de biossurfactantes, com destaque para o aproveitamento de resíduos industriais e domésticos. Essa estratégia não apenas representa uma alternativa viável em termos de custo, como também contribui significativamente para a mitigação do acúmulo de resíduos ambientais, cuja geração tem aumentado de forma acelerada (Silva *et al.*, 2023).

Para sua síntese, os microrganismos necessitam de fontes de carbono, nitrogênio, enxofre e fósforo, elementos comumente encontrados em diversos resíduos vegetais. Nesse contexto, resíduos de origem agroindustrial têm se destacado como fontes promissoras de nutrientes para a produção de biossurfactantes (Yadav *et al.*, 2024), conforme demonstrado na Figura 3. Devido ao seu perfil ambientalmente sustentável, os biossurfactantes são considerados potenciais substitutos dos surfactantes químicos em diversas aplicações industriais, especialmente nas áreas farmacêutica, cosmética e de biorremediação (Johnson *et al.*, 2021; Parthasarathi *et al.*, 2024).

Figura 3: Produção de biossurfactantes microbianos a partir de resíduos agroindustriais: vantagens, desvantagens e aplicações.



Fonte: Alves et al., (2025).

Diversos tipos de resíduos, como águas residuais do processamento da mandioca, bagaço de cana-de-açúcar, espigas de milho, palha de arroz, talos de banana, além de cascas de milho, abacaxi, beterraba e laranja, têm demonstrado resultados promissores em processos fermentativos voltados à produção de biossurfactante (Alves et al., 2025). Alguns dos estudos mais recentes que abordam a produção sustentável de biossurfactantes por meio da valorização de resíduos biológicos estão resumidos na Tabela 3.

Tabela 3: Resíduos utilizados para produção de biossurfactantes.

Micro-organismo Produtores	Resíduo Industriais	Referencias
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 10145	Melaço de soja	Rodrigues (2016)

<i>Candida tropicalis</i>	Soro de leite, manipueira e óleo de soja pós-fritura	Ribeaux (2016)
<i>Paenibacillus sp.</i>	Manipueira	Fernandes (2016)
<i>Lactococcus lactis subsp. lactis</i> CECT- 4434	Soro de leite e vinhaça de uva	Vera (2017)
<i>Bacillus subtilis</i> UFPEDA 438	Melaço de cana	Rocha (2017)
<i>Rhizopus arrizus</i> UCP 1607	Milhocina e glicerol residual	Pele (2017)
<i>Bacillus subtilis</i>	Resíduo da casca da laranja	Rovina (2018)
<i>Pseudomonas azotoformans</i> A115	Bagaço de casca de batata	Das e Kumar (2018)
<i>Candida tropicalis</i>	Resíduos do processamento de abacaxi (talo e casca)	Ferrassoli (2019)
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> UCP 1601	Óleo de soja pós-fritura	Nogueira (2019)
<i>Bacillus safensis</i> J2	Bagaço de cana	Das e Kumar (2019)
<i>Candida guilliermondii</i>	Melaço de cana, milhocina e óleo residual de fritura	Lira (2020)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> URM 6670	Óleo de soja pós-fritura e milhocina	Ribeiro <i>et al.</i> , (2020)
<i>Enterrobacter sp.</i>	Melaço de cana e milhocina	Chandankere <i>et al.</i> , (2020)

Fonte: Silva *et al.*, (2023)

Nesse cenário, a utilização de resíduos agroindustriais emerge como uma estratégia promissora, aos princípios da economia circular e da valorização de subprodutos. Utilizando esses recursos sustentais, consequentemente haverá vantagens significativas, como por exemplo na redução de custo e acessibilidade das matérias-primas.

3.6.1 Fatores que influenciam a produção

Como visto anteriormente os resíduos de culturas agrônômicas tropicais podem ser substratos potencialmente baratos com alto teor de carbono que facilitam a fermentação, a cultura de microrganismos e, de fato, a produção de biossurfactante (Martinez-Burgos *et al.*, 2021).

Dentre os fatores que influenciam a produção e o tipo de polímero sintetizado por microrganismos, se destacam alguns parâmetros nutricionais como a fonte de carbono e nitrogênio, a relação carbono/nitrogênio, restrições nutricionais e parâmetros físicos, como pH, salinidade, circulação de ar e a presença de cátions (Roy, 2018). Além disso, o rendimento do biossurfactante vai depender de alguns fatores, como o tipo e natureza dos micro-organismos, condição de fermentação (pH, temperatura, agitação etc.) e categoria de fermentação (Begum *et al.*, 2023).

3.6.2 Fonte de carbono

Para reduzir o custo de produção, muitos pesquisadores sugerem a utilização de resíduos agroindustriais como principal fonte de carboidratos (Liepins *et al.*, 2021). A fonte de carbono desempenha um papel crucial no crescimento e na produção de biossurfactantes por micro-organismos, e sua importância varia de uma espécie para outra. O nitrogênio surge como o segundo suplemento mais significativo para a produção desses compostos por micro-organismos (Santos *et al.*, 2016).

Alguns óleos são enriquecidos com carboidratos, no qual contém substâncias orgânicas importantes, como açúcares, ácidos orgânicos e compostos nitrogenados,

que auxiliam no crescimento microbiano. O óleo de fritura residual por exemplo, é um resíduo rico em carboidrato, muitos pesquisadores afirmam que esse resíduo pode ser usado na formulação de biossurfactante e bioemulsificante como fonte suplementar de carbono para a síntese de biomoléculas durante a fermentação (Silva *et al.*, 2023; Liu *et al.*, 2020; Begum *et al.*, 2023).

Possuindo compostos majoritariamente por triglicerídeos, moléculas formadas pela união de três ácidos graxos com uma molécula de glicerol. Devido à sua insolubilidade em água e solubilidade em solventes orgânicos, os óleos são amplamente empregados em diversas aplicações, principalmente na alimentação (Nascimento *et al.*, 2025). Tendo em vista, que esse tipo de matéria-prima é produzido em abundância no Brasil, segundo a Associação Brasileira das indústrias de Óleos Vegetais e United States Department of Agriculture, em dados obtidos de 2017 a 2020 o Brasil ocupa a 7ª posição na produção de óleos vegetais, com uma produção de 9,85 milhões de toneladas anuais (United States, 2021).

Outro tipo de resíduo que se qualifica é o bagaço de malte, no qual, contem na sua composição, celulose, polissacarídeos não-celulósicos e lignina, além de ter grande quantidade de proteínas, fibras e água, o que o impossibilita a sua conserva (Mussato *et al.*, 2007; Skendi *et al.*, 2018). De acordo com os dados fornecidos do Sindicato Nacional da Indústria da Cerveja (SINDICERV), em 2023 foram produzidos mais de 15 bilhões de litros de cerveja no Brasil, gerando uma vasta quantidade de resíduos, sendo o bagaço de malte como um dos principais resíduos gerados pelo setor agroindustrial no mundo (Machado *et al.*, 2025).

Diante disso, os resíduos citados possuem potencial para servir como substratos alternativos na produção de biomoléculas microbianas, considerando que esses resíduos além de serem gerados em abundancia, podem causa impactos ambientais significativos, visando assim uma reutilização desse material para fins biotecnológicos. Embora trata-se de um substrato que não é tão utilizado para a produção de biossurfactante microbiana, o bagaço de malte apresenta características promissoras na alternativa para a produção dessa biomolécula, onde esse material possui em sua composição, celulose, polissacarídeos não celulósicos, lignina, água, além de fibras e proteínas (Silva *et al.*, 2021). Tendo em vista, que pode ser utilizado

como substrato para produção de biomassa fúngica (Wolters *et al.*, 2016) e substrato para produção de enzimas (Gregori *et al.*, 2008).

Em alguns trabalhos é observado a produção de biossurfactante por *Candida bombicola*, em meio formulado com 5,0% melaço, 3,0% licor íngreme de milho e 2,5% óleo residual de fritura, obtendo caracterização molecular aniônica, com capacidade de redução da tensão superficial de 70 mN/m para 29 mN/m, com um rendimento de 13g/L (Silva *et al.*, 2023).

Selva Filho *et al.*, (2024), obteve resultados semelhantes com a sua produção de biossurfactante por *Bombicola starmerella*, contendo meios de baixo custo com 2,0% de farinha de batata, 5,0% de óleo de fritura residual de canola e 0,2% de uréia, possuindo um rendimento de 7,72 g/L com uma tensão superficial de 32,50 mN/m.

3.6.3 Fonte de nitrogênio

Na produção de biossurfactantes, é necessário avaliar diferentes fontes nitrogenadas, como extrato de levedura, sulfato de amônio, nitrato de amônio, nitrato de sódio e extrato de carne, por serem essenciais ao metabolismo microbiano, essas substancias atuam no crescimento celular e na síntese de proteínas e enzimas (Roy, 2018).

Duval *et al.* (2015), verificou a influência de diferentes fontes de nitrogênio: cloreto de amônio, nitrato de sódio, ureia e peptona, na concentração de 0,12% de uma produção de biossurfactante a partir de bactérias isoladas da água do mar. Dentre os micro-organismos avaliados, a maior produção e menor redução da tensão superficial ocorreram com a peptona como fonte de nitrogênio, em que a tensão superficial foi de 50 mN/m para 29,6 mN/m. Em um estudo feito por Afonso (2020), a substituição do extrato de levedura por resíduos agroindustriais (soro do leite, proteína de soja e milhocina) como fonte de nitrogênio, obteve a partir do delineamento experimental, a produção otimizada de 36,13 g/L com 1,5 g/L de proteína de soja e 0,5 g/L de milhocina, validando o modelo preditivo que indicava 35,22 g/L, para uma produção de soforolípidios por *Starmerella bombicola*.

3.6.4 Condições de crescimento

O crescimento microbiano, seus metabólitos e o processo de fermentação são amplamente influenciados pelo pH, temperatura, agitação, aeração, oxigênio dissolvido e tempo de fermentação (Twigg *et al.*, 2021). Sabe-se que um pH ideal é sempre necessário para obter o crescimento microbiano e a fermentação do biossurfactante. Jimoh e Lin (2019), relataram que a produção de biossurfactante por *Candida antarctica* teve uma faixa de pH definida entre 4 e 8, sendo a melhor produção obtida em pH 8. Muitas espécies do gênero *Candida* produzem biossurfactantes máximos em uma ampla faixa de pH, como é o caso da *Candida glabrata* UCP 1002, produzindo biossurfactante máximo em pH 5,7 e *Candida batistae* com pH 6,0 (Sarubbo *et al.*, 2006; Konishi *et al.*, 2008).

Já em trabalhos como Bueno, Silva e Garcia-Cruz (2010), avaliaram a influência do pH em diferentes tempos de fermentação para a produção de biossurfactantes. A produção contendo o micro-organismo *Bacillus pumilus* teve melhores resultados nos pHs de 5,0 e 7,0, observando melhores índices de emulsificação e de redução da tensão superficial, no tempo de fermentação de 72h.

Diversas investigações científicas afirmam que um controle do pH na produção de biossurfactante é extremamente importante para o processo de fermentação, sem esse controle resultará na diminuição na produção (Bednarsk *et al.*, 2004).

A temperatura é considerada um dos parâmetros ambientais mais críticos para a produção de biossurfactantes, tendo em vista que cada micro-organismo irá possuir uma faixa térmica específica para o seu desenvolvimento, geralmente situada entre 25°C e 30°C (Tripathi *et al.*, 2019). Influenciando não só o crescimento microbiano, mas também a fermentação de carboidratos, esse processo ocasiona impactos no processo metabólico dos micro-organismos e nas propriedades físicas do caldo de fermentação (Zhou *et al.*, 2018).

Sabe-se que uma temperatura favorável para a produção de biossurfactantes por fungos fica em torno de 30 °C (Deshpande; Daniels, 1995). No entanto, se a temperatura exceder seu nível ideal, as atividades enzimáticas podem ser prejudicadas, bem como a desnaturação de enzimas e outras proteínas essenciais,

sendo extremamente fundamental o mantimento de uma temperatura ideal para a produção (Begum *et al.*, 2023).

A agitação é um dos parâmetros críticos no processo de fermentação, afetando diversas atividades, como a transferência de calor e nutrientes, disponibilidade de oxigenação, homogeneização do meio, controle de viscosidade e o crescimento celular. Porém, a aeração fornece o gás oxigênio necessário para o crescimento celular e o processo fermentativo (Begum *et al.*, 2023).

Guilmanov *et al.* (2002) estudaram a produção de biossurfactante por *C. antarctica*, onde a condição de fermentação foi fixada em uma taxa de fluxo de ar de 1 vvm e quantidade de oxigênio dissolvido em 50%. O aumento dessa taxa de fluxo de ar indicou uma diminuição na produção de biossurfactante devido à alta formação de espuma. Já Wei e colaboradores (2005), observaram que a produção de ramnolipídios aumentou quase 80%, bem como a taxa de crescimento celular obtendo um aumento de 0,22 para 0,72 h⁻¹ com o aumento da taxa de agitação de 50 rpm para 200 rpm. Eles também estudaram que níveis elevados de oxigênio dissolvido têm um impacto positivo na produção de ramnolipídios, juntamente com o crescimento microbiano.

Em um estudo com *P. alcaligenes* cultivado em óleo de palma, Oliveira *et al.* (2009) constataram que aumentando a velocidade de agitação de 50 para 200 rpm resultaria na diminuição da tensão superficial do meio livre de células para 27,6 mN/m. Outro fato a ser observado é em relação a otimização do tempo de incubação, sendo essencial para a produção de biossurfactantes, dado que cada micro-organismo possui uma cinética de produção mais específica, exigindo intervalos de tempos diferenciados para máxima produtividade. Como por exemplo Deshpande e Daniels, (1995), que obtiveram uma produção maior de biossurfactante pela *Candida bombicola* utilizando gordura animal após 68 horas de incubação.

3.7 Aplicações ambientais do biossurfactante

Atualmente, os biossurfactantes são moléculas multifuncionais de relevância no século XXI. Sua notoriedade reside não apenas na abrangência de suas aplicações

em diversas áreas, mas primordialmente na caracterização como moléculas “amigas do meio ambiente” (Silva *et al.*, 2024). Segundo Jimoh e Lin (2019), esses compostos podem evitar impactos ambientais negativos, além de serem elementos de uma tecnologia biocompatível, sustentável e segura, estando alinhada com as crescentes demandas por práticas ecológicas.

Diante disso, nota-se que os biossurfactantes possuem diversas aplicações nas indústrias de petróleo, alimentos, farmacêutica, cosmética e desempenham um papel importante na proteção ambiental, controle de derramamento de óleo, biodegradação e remediação de solo contaminado por metais pesados (Gaur *et al.*, 2019). Isso devido ao seu potencial em remediar áreas poluídas por óleo, metais pesados e limpeza de esgotos, tendo em vista que os biossurfactantes possuem propriedades emulsificantes que contribui para a degradação de hidrocarbonetos (Karlapudi *et al.*, 2018).

Além disso, os biossurfactantes também são conhecidos por apresentarem propriedades anti-adesivas, estabilizadoras, umectantes e antimicrobianas (Silva *et al.*, 2024). Portanto a versatilidade do biossurfactante aumenta o seu valor, aplicando o seu potencial de utilização em diversos setores da ciência e indústria (Fenibo *et al.*, 2019).

3.7.1 Contaminação por petroderivados

Contaminação ambiental por petroderivados, decorrente de acidentes permanece sendo um dos maiores desafios ambientais da atualidade. Pois, esses compostos estão presentes em diversos setores industriais, aumentando os danos aos ecossistemas (Sarubbo *et al.*, 2022). O petróleo, por exemplo é um hidrocarboneto hidrofóbico que causa uma serie de efeitos negativos sobre as propriedades estruturais e funcionais das membranas celulares dos organismos vivos, proporcionando um risco considerável de contaminação tanto em ambientes marinhos quanto em terrestres (Kumar *et al.*, 2021).

Sabe-se que os acidentes no transporte de derivados de petróleo possibilitam no aumento de contaminação ambiental. Entre as principais fontes de contaminação

destacam-se: vazamentos em navios e caminhões-tanque; corrosão em tanques de armazenamento subterrâneos; vazamentos em postos de combustível; e incidentes em operações de extração petrolífera. Algumas práticas operacionais como a lavagem de tanques navais, descarte inadequado de resíduos industriais e de setores que utilizam petróleo na fabricação de plásticos, solventes, produtos farmacêuticos e cosméticos, bem como vazamentos naturais de óleo no leito marinho (Liu *et al.*, 2018).

Existem alguns mecanismos que minimizam os danos causados pelo derramamento de petróleo no ecossistema, empregando tecnologias distribuídas em quatro eixos principais: aplicação de agentes químicos, combustão controlada *in situ*, mecanismos de contenção e recuperação e estratégias de biorremediação (Ivishina *et al.*, 2015). A biorremediação se torna um caminho mais viável para a remoção desses contaminantes no ambiente, com a aplicação de biossurfactante melhora a dispersão desses compostos no meio ambiente, realizando uma remoção dos poluentes através da biodegradação, além de não apresenta toxicidade sendo uma alternativa sustentável e amigável para o meio ambiente (Perfumo *et al.*, 2018).

3.7.2 Biorremediação

O processo de biorremediação, a estrutura do solo determina a sua capacidade de transferência no que diz respeito a água e nutrientes para as áreas bioativas, portanto, a utilização de biossurfactantes no solo pode produzir um efeito positivo na forma de estimulação da dissolução, ou nas taxas de dessorção, solubilidade e emulsificação de hidrocarbonetos (Santos *et al.*, 2021).

Como visto anteriormente, esse método é considerado ecologicamente correto e economicamente simples. A biocompatibilidade e a biodisponibilidade são os primeiros pontos a serem considerados para utilização dos biossurfactantes. Diante disso, essa classe de produtos é compatível para degradação de resíduos, ainda em dois sistemas principais: no solo e nos sistemas aquáticos (Fenibo *et al.*, 2019).

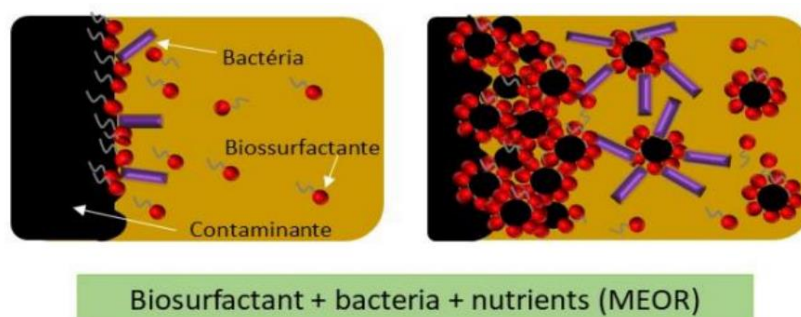
Outro fato importante, é que a biorremediação envolve a decomposição biológica de hidrocarbonetos por micro-organismos. Esses seres utilizam os poluentes como fonte de carbono para obter energia, gerando degradação de dióxido de carbono, água, sais minerais e gases. Portanto a eficiência do processo de

biorremediação será diretamente proporcional à população de micro-organismos degradadores. Tendo em vista, que a bioestimulação irá consistir em técnicas que promovem o crescimento desses micro-organismos nativos, por meio da adição de oxigênio, nutrientes e receptores de elétrons específicos. Esse procedimento visa acelerar a degradação dos contaminantes e, quando necessário, ajustar condições do meio como o pH (Marinho *et al.*, 2022).

Outra forma de aplicação consiste através da bioaumentação, no qual os micro-organismos autóctones são introduzidos no ambiente contaminado promovendo a aceleração do processo de degradação dos poluentes (Rivera *et al.*, 2019).

Segundo Santos *et al.* (2016), a biodegradabilidade de hidrocarbonetos derivados do petróleo por biossurfactantes acontece mediante de dois mecanismos principais, onde pode ser observado na Figura 4.

Figura 4: Imagem ilustrativa da ação do biossurfactante sobre o petróleo.



Fonte: Selva Filho *et al* (2023)

O primeiro mecanismo consiste no aumento da biodisponibilidade do substrato hidrofóbico, reduzindo a tensão superficial do meio e a tensão interfacial entre a parede celular bacteriana e os hidrocarbonetos. O segundo mecanismo envolve a interação do biossurfactante com a superfície celular, promovendo modificações na membrana, no qual facilita a adesão do hidrocarboneto, como o aumento da hidrofobicidade e a redução de lipopolissacarídeos, sem a ocorrência de danos à membrana. Com isso, os biossurfactantes iram bloquear a formação de pontes de hidrogênio e promover a interação hidrofóbicas-hidrofílicas, levando a um rearranjo molecular, redução da tensão superficial, aumento da área superficial e, consequentemente, maior biodisponibilidade e biodegradabilidade.

Conforme apresentado na Tabela 4, averigua-se uma vasta diversidade de biossurfactantes e seus microrganismos produtores com perspectivas de utilização em processos de biorremediação de ambientes contaminados por petróleo.

Tabela 4 – Biossurfactantes, micro-organismos produtores e suas aplicações na biorremediação de ambientes contaminados com óleo.

Micro-organismos	Tipo de biossurfactante	Aplicações
<i>Rhodococcus erythropolis</i> 3C-9	Glicolípido e trealose	Operações de limpeza de derramamento de óleo.
<i>Rhodococcus</i> sp. TW53	Lipopeptídeo	Biorremediação da poluição marinha por óleo.
<i>R. wratislaviensis</i> BN38	Glicolípido	Aplicações de biorremediação.
<i>Bacillus subtilis</i> BS5	Lipopeptídeo	Biorremediação de locais contaminados por hidrocarbonetos.
<i>Azotobacter chroococcum</i>	Lipopeptídeo	Aplicações ambientais.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> BS20	Ramnolípido	Biorremediação de locais contaminados por hidrocarbonetos.
<i>Micrococcus luteus</i> BN56	Tetraéster de trealose	Biorremediação de ambientes contaminados com óleo.
<i>Nocardiopsis alba</i> MAS10	Lipopeptídeo	Biorremediação.

<i>Pseudoxanthomonas sp. PNK-04</i>	Ramnolipídeo	Aplicações ambientais.
<i>Nocardiopsis lucentensis MAS04</i>	Glicolipídio	Biorremediação de ambientes marinhos.
<i>Calyptogenia soyocae</i>	Lipídio de manosileritritol	Biorremediação de ambientes marinhos.
<i>Pseudozyma hubeiensis</i>	Glicolipídio	Biorremediação da poluição marinha por óleo.
<i>Pseudomonas cepacia CCT6659</i>	Ramnolipídeo	Biorremediação de ambientes marinhos e em do solo.
<i>Candida bombicola</i>	Soforolipídeos	Aplicações ambientais.
<i>C. lipolytica UCP0988</i>	Soforolipídeos	Remoção de óleo em areia.
<i>C. sphaerica UCP0995</i>	Complexo proteico-carboidrato-lipídio	Remoção de óleo em areia.
<i>C. guilliermondii UCP0992</i>	Complexo de glicolipídio	Remoção de óleo de motor em areia.
<i>C. tropicalis UCP0996</i>	Complexo proteico- carboidrato-lipídio	Remoção de petróleo e óleo de motor adsorvido em areia.

Fonte: Marinho *et al.*, (2022).

3.7.3 Remoção de óleo no solo

É notável que os biossurfactantes possuem uma capacidade de reduzir a tensão superficial, melhora a interação água-óleo, acelera a degradação de hidrocarbonetos por micro-organismos, além disso proporcionam a biorremediação de ambientes terrestres e aquáticos contaminados. Com isso, a sua utilização aumenta a solubilidade dos compostos hidrofóbicos, promover a dessorção e solubilização de hidrocarbonetos, além de facilitar a identificação destes compostos por células microbianas (Sarubbo *et al.*, 2022).

Diante disso, observa-se que o mecanismo de adsorção promove a liberação dos poluentes através da repulsão entre partículas presentes no solo e seus grupos funcionais, enquanto isso a solubilização procede através da formação de micelas que incorporam os contaminantes a fase aquosa. Esses poluentes divididos em micelas podem ser futuramente recuperados e desemulsificados, podendo ser destruídos de forma eletroquímica ou adsorção em carvão ativado. No entanto, a utilização de surfactantes verdes, pode ser uma alternativa mais reciclada, minimizando os custos de remediação (Marinho *et al.*, 2022; Silva *et al.*, 2020). A aplicação de biossurfactante para a remediação de solo contaminado, tem sido avaliada em diversos trabalhos. Um biossurfactante produzido por *Candida tropicalis*, relatado por Caldas *et al.* (2024), demonstrou um aumento da sua biodegradabilidade ao petróleo mais de 80%, em ensaios dinâmicos para a remoção de óleo adsorvido a areia. Oliveira *et al.* (2025), estudou os efeitos do biossurfactante produzido *Bombicola starmella*, para a solubilização do óleo presente em diferentes solos, no qual obteve valores significativos na remoção desses compostos possuindo um maior aumento de 99% na remoção do solo argiloso.

Mesmo com diversos avanços demonstrando que os biossurfactantes são uma excelente alternativa para a remoção e degradação de contaminantes hidrofóbicos no solo, no entanto Silva *et al.* (2020), afirma que tanto o biossurfactante e os surfactantes sintéticos podem se ineficazes ou ao mesmo tempo inibir o metabolismo microbiano, podendo retardar a biodegradação. Sendo assim, a avaliação de toxicidade e dosagem adequada dessas substâncias deve ser realizada de forma criteriosa antes

da aplicação dessas biomoléculas em tratamento de solo, afim de obter um resultado mais eficaz de remoção e sustentabilidade.

4. REFERENCIAS

ASLAM, R. et al. Biosurfactants production utilizing microbial resources. In: ASLAM, R.; ASLAM, J.; HUSSAIN, C. M. (org). Industrial Applications of Biosurfactants and Microorganisms. Elsevier: cap. 3, p. 39–58, 2024.

ALVES, J. A. et al. Produção de biossurfactante por *Pseudomonas aeruginosa* utilizando resíduos de cacau (*Theobroma cacao* L.) e seu potencial na dispersão de óleo. **Biodivers. Bras**, v. 15, n. 1, p. 1-12, 2025.

ARAUJO, L. V.; FREIRE, D. M. G.; NITSCHKE, M. Biossurfactantes: Propriedades anticorrosivas, antibiofilmes e antimicrobianas. **Química Nova**, v. 36, n. 6, p. 848–858, 2013.

AZEVEDO, M. A. et al. Potential brewer's spent grain as a carbon source alternative for biosurfactant production by *Rhodotorula mucilaginosa* (LBP4). **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 12, n. 1, 111594, 2024.

AFONSO, L. et al. Aplicação de subprodutos agroindustriais como fontes de nitrogênio para a produção de soforolipídios por *Starmerella bombicola*. **Brazilian Journal Of Development**, v. 6, n. 3, p. 14875-14887, 2020.

BRASIL. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 123 Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação**, 2004. Ministério da Saúde - MS. 2004.

BASIT, M. et al. Biosurfactants production potential of native strains of *Bacillus cereus* and their antimicrobial, cytotoxic and antioxidant activities. **Pakistan journal of pharmaceutical sciences**, v. 31, n. 1, p. 251–256, 2018.

BARROS, F. F. C. et al. Propriedades emulsificantes e estabilidade do biossurfactante produzido por *Bacillus subtilis* em manipueira. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, p. 979-985, 2008.

BALAKRISHNAN, S. et al. Biosurfactants: An antiviral perspective. In: P. KUMAR, P.; DUBEY, R. C. (org). **Multifunctional Microbial Biosurfactants. Switzerland: Springer Nature**, 2023, cap. 20, p. 431-454, 2023.

BARROS, V. P. O. et al. Biosurfactants production by marine yeasts isolated from zoanthids and characterization of an emulsifier produced by *Yarrowia lipolytica* LMS 24B. **Chemosphere**, v. 355, 141807, 2024.

BEGUM, W.; SAHA, B.; MANDAL, U. A comprehensive review on production of biosurfactants by bio-degradation of waste carbohydrate feedstocks: an approach towards sustainable development. **Royal Society of Chemistry**, v. 13, p. 25599, 2023.

BANAT, I. M. et al. Microbial biosurfactants production, applications and future potential. **Applied Microbiology And Biotechnology**, v. 87, n. 2, p. 427-444, 2010.

BUENO, S. M.; SILVA, A. N.; GARCIA-CRUZ, C. H. Estudo da produção de biossurfactante em caldo de fermentação. **Química Nova**, v. 33, n. 7, p. 1572-1577, 2010.

BEDNARSKI, W. et al. Application of oil refinery waste in the biosynthesis of glycolipids by yeast. **Bioresource Technology**, v. 95, n. 1, p. 15-18, 2004.

BRUNATTI, A. C. S. et al. Aproveitamento de óleo de fritura usado para síntese de biodiesel: uma revisão. **Políticas Públicas e Cidades**, v. 14, n. 7, p. 01-15, 2025.

APROVEITAMENTO DE ÓLEO DE FRITURA USADO PARA SÍNTESE DE BIODIESEL: UMA REVISÃO

CANDIDO, M. B. et al. Produção de Biossurfactantes com Extrato Aquoso da Algaroba Utilizando *Bacillus safensis*. **Revista de Gestão Social e Ambiental**, v. 18, n. 11, p. 1-18, 2024.

CHENG, T. et al. A novel rhamnolipid-producing *Pseudomonas aeruginosa* ZS1 isolate derived from petroleum sludge suitable for bioremediation. **AMB Express**, v. 7, n. 1: e120, 2017.

CAMPOS, J. M et al. Formulation of mayonnaise with the addition of a bioemulsifier isolated from *Candida utilis*. **Toxicology Reports**, v. 2, p. 1164-1170, 2015.

CHABHADIYA, S. et al. Unlocking the potential of biosurfactants: Innovations in metabolic and genetic engineering for sustainable industrial and environmental solutions. **Biotechnology Notes**, v. 5, p. 111–119, 2024.

CIURKO, D. et al. Production and characterization of lipopeptide biosurfactant from a new strain of *Pseudomonas antarctica* 28E using crude glycerol as a carbon source. **RSC Advances**, v. 13, n. 34, p. 24129–24139, 2023.

CALDAS, M. C. de F. et al. Biosurfactant Production using *Candida tropicalis* URM 1150 and its Application in the Bioremediation of Coast Environments Impacted by Oil Spills. **Frontiers in Bioscience-Elite**, v. 16, n. 4, p. 33, 2024.

DA SILVA, M. C. P. et al. Surfactin Production by *B. subtilis* Using Oil Lee Mix as Substrate. **Rev. Virtual Quim.** p. 1-12, 2023.

DURÁN, S. M. et al. Evaluation of agro-industrial residues produced in Costa Rica for a low-cost culture médium using *Bacillus subtilis* 168. **Revista Tecnología en Marcha**, v. 33, n. 4, p. 15-25, 2020.

DAS, A. J.; KUMAR, R. Utilization of agro-industrial waste for biosurfactant production under submerged fermentation and its application in oil recovery from sand matrix. **Bioresour Technol**, v. 260, p. 233-240, 2018. doi:10.1016/j.biortech.2018.03.093

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.

DATTA, D. et al. Microbial biosurfactants: Multifarious applications in sustainable agriculture. **Microbiological Research**, v. 279, 127551, 2024.

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

DURVAL, I. J. B. et al. **Produção de biossurfactante por bactérias isoladas da água do mar**. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE BIOPROCESSOS, 20., 2015, Fortaleza. Anais [...] Fortaleza: [s. n.], 2015. p. 1-6.

DESHPANDE, M.; DANIELS, L. Evaluation of sophorolipid biosurfactant production by *Candida bombicola* using animal fat. **Bioresource technology**, v. 54, n. 2, p. 143-150, 1995.

FACCIOLI, Y. E. S. et al. Application of a biosurfactant from *Pseudomonas cepacia* CCT 6659 in bioremediation and metallic corrosion inhibition processes. **Journal of Biotechnology**, v. 351, p. 109–121, 2022.

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. Biosynthesis and characterization of sophorolipid biosurfactant by *Candida spp.*: Application as food emulsifier and antibacterial agent. **Bioresource Technology**, v. 285, 121314, 2019.

GUEDES, E. H. S. et al. Resíduos agroindustriais como substrato para a produção de lipases microbiana: uma revisão. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 2, 2021.

GUNJA, A. Biosurfactants from renewable sources - A review. **Nepal Journal of Environmental Science**. v. 10, p. 15-23, 2023. 10.3126/njes.v10i2.48538.

GUPTA, B. et al. Enhanced pyrene degradation by a biosurfactant producing *Acinetobacter baumannii* BJ5: Growth kinetics, toxicity and substrate inhibition studies. **Environmental Technology & Innovation**, v. 19, 100804, 2020.

GREGORI, A. et al. The use of spent brewery grains for *Pleurotus ostreatus* cultivation and enzyme production. **New Biotechnology**, v. 25, n. 2-3, p. 157-161, 2008.

GUILMANOV, V. et al. Oxygen transfer rate and sophorose lipid production by *Candida bombicola*. **Biotechnology and bioengineering**, v. 77, n. 5, p. 489-494, 2002.

HARI, A. et al. Common operational issues and possible solutions for sustainable biosurfactant production from lignocellulosic feedstock. **Environ Res**, v. 251, 2024: e118665.

ISHAQ, U. et al. Production and characterization of novel self-assembling biosurfactants from *Aspergillus flavus*. **Journal Of Applied Microbiology**, v. 119, n. 4, p. 1035-1045, 2015.

IVSHINA I. B. et al. Oil spill problems and sustainable response strategies through new technologies. **Environ. Sci. Process. Impacts**. v.17, n. 7, p. 1201-1219, 2015.

JOHNSON, P. et al. Effect of synthetic surfactants on the environment and the potential for substitution by biosurfactants. **Adv Colloid Interface Sci**, v. 288: e102340, 2021.

JAHAN, R. et al. Biosurfactants, natural alternatives to synthetic surfactants: Physicochemical properties and applications. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 275, 2020.

JIMOH, A. A.; LIN, J. Production and characterization of lipopeptide biosurfactant producing *Paenibacillus* sp. D9 and its biodegradation of diesel fuel. *Internacional Journal of Environmental Science and Technology*, v. 16, p. 4143-4158, 2019.

KARLAPUDI, A. P. et al. Role of biosurfactants in bioremediation of oil pollution-a review. **Petroleum**, v. 4, n. 3, p. 241-249, 2018.

KONISHI, M. et al. Production of new types of sophorolipids by *Candida batistae*. **Journal of oleo Science**, v. 57, n. 6, p. 359-369, 2008.

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**, v. 407, p. 124827, 2021.

LIMA, R. A. et al. Production and characterization of biosurfactant isolated from *Candida glabrata* using renewable substrates. **African journal of microbiology research**. v. 11. n. 6. p. 273-244, 2017.

LIEPINS, J. et al. Glycolipid biosurfactant production from waste cooking oils by yeast: Review of substrates, producers and products. **Fermentation**, v. 7, n. 3, p. 136, 2021.

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.

LIU, G. et al. Advances in applications of rhamnolipids biosurfactant in environmental remediation: A review. **Biotechnology and bioengineering**, v. 115, n. 4, p. 796-814, 2018.

MARINHO, P. S. S.; SILVA, R. R.; LUNA, J. M. Biossurfactantes microbianos e aplicações ambientais: uma revisão narrativa. **Research, Society and Development**, v. 11, 12, 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i12.34123>

MAGALHÃES E. R. B. et al. Use of Different Agroindustrial Waste and Produced Water for Biosurfactant Production. **Biosci Biotech Res Asia**, v. 15, n. 1, 2018.

MACIEL, C. C. S. et al. Caracterização de biossurfactante por *Curvularia luneta*-UFPE885 para descontaminação de solos por óleo automotivo. **Interfaces Científicas**, v. 9, n. 3, p. 7-23, 2024.

MARCELINO, P. R. F. et al. Sustainable production of biosurfactants and their applications. In: INGLE, A. P.; CHANDEL, A. K.; SILVA, S. S. (ES). **Lignocellulosic Biorefining Technologies**. p. 159-183, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1002/9781119568858.ch8>. Acesso em: 9 set. 2025.

MARTINEZ-BURGOS, W. J et al. Agro-industrial wastewater in a circular economy: Characteristics, impacts and applications for bioenergy and biochemicals. **Bioresource technology**, v. 341, p. 125795, 2021.

MUSSATTO, S. I.; FERNANDES, M.; ROBERTO, I. C. Lignin recovery from brewer's spent grain black liquor. **Carbohydrate Polymers**, v. 70, n. 2, p. 218-223, 2007.

MACHADO, B. R. C. et al. A reutilização do bagaço de malte para geração de energia. **Agenda**, p. 31, 2030.

NAGTODE, V. et al. Green Surfactants (Biosurfactants): A Petroleum Free Substitute for Sustainability—Comparison, Applications, Market, and Future Prospects. **ACS Omega**, v. 8, n. 13, p. 11674–11699, 2023.

NASCIMENTO, P. P. et al. Tecnologias Emergentes na Produção Sustentável de Biossurfactantes por Leveduras. **Journal of Media Critiques**, v. 10, n. 26, p. 01-21, 2024.

NASCIMENTO, F. C. A. et al. ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS EM ÓLEO RESIDUAL DE BATATA-FRITA: ESTUDO DA QUALIDADE DO RESÍDUO. **ARACÊ**, v. 7, n. 5, p. 25787-25798, 2025.

OLIVEIRA, C. Z. et al. Seleção de indutores e cepas de *Bacillus* para produção de biossurfactantes. **Revista Observatorio de la Economía Latinoamericana**, v. 23, n. 1, p. 01-16, 2025.

OTZEN, D. E. Biosurfactants and surfactants interacting with membranes and proteins: same but different?. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes**, v. 1859, n. 4, p. 639-649, 2017.

OLIVEIRA, T. S. et al. Atividade antimicrobiana do biossurfactante produzido por *Pseudomona ssp.* CCMICS 105. **Scientia Plena**, v. 18, n. 1, p. 1–8, 2022.

OLIVEIRA, F. J. S. et al. Production of rhamnolipids by a *Pseudomonas alcaligenes* strain. **Process Biochemistry**, v. 44, n. 4, p. 383-389, 2009.

OLIVEIRA, K. W. et al. Eco-Friendly Biosurfactant: Tackling Oil Pollution in Terrestrial and Aquatic Ecosystems. **Fermentation**, v. 11, n. 4, p. 199, 2025.

PARTHASARATHI, R. et al. *Serratia rubidaea* SNAU02-mediated biosurfactant production from cashew apple bagasse: A promising biotechnological strategy for environmental sustainability. **Biocatal Agric Biotechnol**, v. 58, 58: e103158, 2024.

PERFUMO, A.; BANAT, I. M.; MARCHANT, R. Going Green and Cold: Biosurfactants from Low-Temperature Environments to Biotechnology Applications. **Trends in Biotechnology**, v. 36, n. 3, p. 277–289, 2018.

QAMAR, S. A.; PACIFICO, S. Cleaner production of biosurfactants via bio-waste valorization: A comprehensive review of characteristics, challenges, and opportunities in bio-sector applications. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 11, n. 6, 111555, 2023.

ROY, A. Review on the biosurfactants: properties, types and its applications. **J. Fundam. Renew. Energy Appl**, v. 8, n. 2, p. 10.4172, 2018.

RIVERA, Á. D.; MARTÍNEZ URBINA, M. Á.; LÓPEZ Y LÓPEZ, V. E. Advances on research in the use of agro-industrial waste in biosurfactant production. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 35, n. 10, p.1-18, 2019.

SANTOS, C. V. M. et al. Biossurfactante- Conceitos Gerais e Perspectivas. In: PACHECO, C. S. G. R (Org). **Ambiente & Sociedade: Concepções, Fundamentos**,

Diálogos e Práticas. 1. ed. Guarujá, SP: Científica Digital, 2021, p. 319-342. DOI: 10.37885/210604986.

SARUBBO, L. A. et al. Biosurfactants: Production, properties, applications, trends, and general perspectives. **Biochemical Engineering Journal**, 10837, 2022.

SILVA, R. R. et al. Recent advances in environmental biotechnology: role of biosurfactants in remediation of heavy metals. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 5, e4411527453-e4411527453, 2022.

SANTOS, B. L. P. Aproveitamento de Resíduos Agroindustriais para Produção de Biossurfactantes: Estudo Comparativo de Licores Hemicelulósicos de Espigas de Milho e Talos de Girassol. **Sustentabilidade**, v.15, 2023, 6341. <https://doi.org/10.3390/su15086341>

SARMA, H. et al. Biosurfactants for oil recovery from refinery sludge: Magnetic nanoparticles assisted purification. **In Industrial and Municipal Sludge**, p. 107-132, 2019.

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.

SANTOS, D. K. F. et al. Biosurfactants: multifunctional biomolecules of the 21st century. **International journal of molecular sciences**, v. 17, n. (3), p. 401, 2016.

SILVA, R. R. et al. Microbial Biosurfactant: *Candida bombicola* as a Potential Remediator of Environments Contaminated by Heavy Metals. **Microorganisms**, v. 11, n. 11, p. 2772, 2023.

SILVA, Y. A. et al. Biossurfactantes: Uma alternativa sustentável no combate à resistência antimicrobiana. In: Pereira, W. F (Org). **Sustentabilidade tecnologia e meio ambiente: Tópicos atuais em pesquisa**. Vol. 4. Guarujá – SP: Científica Digital, 2024, p 8-28. DOI: 10.37885/241218397

SILVA, C. R. et al. Antimicrobial potential of a biosurfactant gel for the prevention of mixed biofilms formed by fluconazole-resistant *C. albicans* and methicillin-resistant *S. aureus* in catheters. **Biofouling**, v. 40, n. 2, p. 165–176, 2024.

SULTANA, S. et al. An industrially potent rhamnolipid-like biosurfactant produced from a novel oildegrading bacterium *Bacillus velezensis* S2. **RSC Advances**, v. 14, n. 34, p. 24516–24533, 2024.

SKENDI, A.; HARASYM, J.; GALANAKIS, C. M. Recovery of high added-value compounds from brewing and distillate processing by-products. In: **Sustainable recovery and reutilization of cereal processing by-products**. Woodhead Publishing. p. 189-225, 2018.

SELVA FILHO, A. A. P. et al. Maximização da produção de um biossurfactante de baixo custo para aplicação no tratamento de solos contaminados com hidrocarbonetos. **Sustainability**, v. 16, n. 18, p. 7970, 2024.

SARUBBO, L. A.; LUNA, J. M.; CAMPOS TAKAKI, G. M. Production and stability studies of the bioemulsifier obtained from a new strain of *Candida glabrata* UCP 1002. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 9, n. 4, p. 0-0, 2006.

SANTOS, A. P. P.; SILVA, M. D. D. S.; COSTA, E. V. L. Biossurfactantes: uma alternativa para o mercado industrial. **Fronteiras: Journal of Social, Technological and Environmental Science**, v. 5, n. 1, p. 88-103, 2016.

SILVA, I. G. S. et al. Soil bioremediation: Overview of technologies and trends. **Energies**, v. 13, n. 18, p. 4664, 2020.

SELVA FILHO, A. A. P. et al. Analysis of the surfactant properties of *Eichhornia crassipes* for application in the remediation of environments impacted by hydrophobic pollutants. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 36, p. 102120, 2021.

SILVA, C. C. et al. Utilização do bagaço de malte da indústria cervejeira como substrato para produção de pectinase por cogumelos Utilization of beer spent grain from the brewing industry as substrate for mushroom pectinase production. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 4, n. 4, p. 5042-5060, 2021.

SILVA, L. C. et al. Utilização da fermentação em estado sólido para valorização do bagaço de malte: uma revisão bibliográfica. In: Cordeiro, C. A. M (Org). **Engenharia de alimentos: Tópicos físicos, químicos e biológicos**. Vol. 1. Guarujá- SP: Cientifica Digital, 2024, p. 226-240. DOI: 10.37885/240316166

SILVA, S. O. et al. Biotechnonology in agro-industry: Valorization of Agricultural Wastes, By-Products and Sustainable Practies. **Microorganisms**, v. 13, n. 8, p. 1789, 2025

THANIGAIVEL, S. et al. Advancements in biosurfactant production using agro-industrial waste for industrial and environmental applications. **Frontiers in Microbiology**, v. 15, 2024. DOI:10.3389/fmicb.2024.1357302

TWIGG, M. S. et al. Microbial biosurfactant research: time to improve the rigour in the reporting of synthesis, functional characterization and process development. **Microbial Biotechnology**, v. 14, p. 147–170, 2021. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13704>

TRIPATHI, L. et al. Biosynthesis of rhamnolipid by a *Marinobacter* species expands the paradigm of biosurfactant synthesis to a new genus of the marine microflora. **Microbial Cell Factories**, v. 18, n. 1, p. 164, 2019.

UNITED STATES. Department of Agriculture. **Oilseeds**: world markets and trade. [Washington, DC], 2021.

VIEIRA, I. M. M. et al. Potential of pineapple peel in the alternative composition of culture media for biosurfactant production. **Environ Sci Pollut Res Int**, v. 28, n. 48: 68957-68971, 2021.

VARGAS, J. C. et al. Produção de biossurfactante em cultivo submerso de *Bacillus subtilis*. **Brazilian Journal of Development**, v. 9, n. 1, p. 2618-2636, 2023

WAGH M. S. et al. Valorisation of agro-industrial wastes: Circular bioeconomy and biorefinery process – A sustainable symphony. **Process Saf Environ Prot**, v. 183, p. 708-725, 2024.

WOLTERS, N. et al. Efficient conversion of pretreated brewer's spent grain and wheat bran by submerged cultivation of *Hericium erinaceus*. **Bioresource technology**, v. 222, p. 123-129, 2016.

WEI, Y.; CHOU, C.; CHANG, J. Rhamnolipid production by indigenous *Pseudomonas aeruginosa* J4 originating from petrochemical wastewater. **Biochemical Engineering Journal**, v. 27, n. 2, p. 146-154, 2005.

YADAV, S. et al. Valorisation of agri-food waste for bioactive compounds: recent trends and future sustainable challenges. **Molecules**, v. 29, n. 9, e2055, 2024.

ZHOU, Y. et al. Effects of agitation, aeration and temperature on production of a novel glycoprotein GP-1 by *Streptomyces kanasensis* ZX01 and scale-up based on volumetric oxygen transfer coefficient. **Molecules**, v. 23, n. 1, p. 125, 2018.

CAPITULO II

CAPITULO DE LIVRO:

CAPITULO DE LIVRO PUBLICADO NO IV CONGRESSO NACIONAL DE
BIOTECNOLOGIA, AMBIENTE, SAÚDE E EDUCAÇÃO – 2024

PRODUÇÃO DE BIOSURFACTANTE POR *CANDIDA GLABRATA*

*Elannie S. C. Silva¹, João V. S Chargas¹, Pollyana P. do Nascimento², Rayanne N. R. B. Simões³, Leonie A. Sarubbo^{4,5}, Raquel D. Rufino³,

¹Programa de Pós-graduação em Desenvolvimento de Processos Ambientais, Universidade Católica de Pernambuco, Rua do Príncipe, n. 526, Boa Vista, Recife, Pernambuco, Brasil

²Doutorado em Biotecnologia/Rede Nordeste de Biotecnologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife, Brasil

³Ciências Biológicas/Escola de Saúde e Ciências da Vida, Universidade Católica de Pernambuco, Rua do Príncipe, n. 526, Boa Vista, Recife, Pernambuco, Brasil.

⁴Instituto Avançado de Tecnologia e Informação/IATI, Rua Potira, 31, Prado, Recife, Pernambuco, Brasil.

⁵Engenharia Ambiental/Escola de Tecnologia e Comunicação, Universidade Católica de Pernambuco, Rua do Príncipe, n. 526, Boa Vista, Recife, Pernambuco, Brasil.

*Endereço de e-mail do autor correspondente: elannie.salvina@gmail.com

RESUMO

Com o aumento da contaminação de substâncias tóxicas no meio ambiente, pesquisadores visam buscar alternativas que reduzam os custos e a preocupação para combater esses poluentes. Com isso a utilização de biossurfactantes microbianos tem crescido como agente tensoativo e/ou emulsificante, sendo capazes de remover petróleo e metais pesados do ambiente. Diante disso, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial biotecnológico da *Candida glabrata* para a produção de biossurfactante utilizando meios de baixo custo para remoção de óleo de motor. O biossurfactante foi produzido utilizando como substrato óleo de fritura residual e bagaço de malte. A tensão superficial e estabilidade do biossurfactante quando exposto a valores extremos de pH, salinidade e temperatura foram avaliadas. Os resultados demonstraram que o biossurfactante produzido, apresentou uma excelente redução da tensão superficial da água de 72 mN/m para 31,01 mN/m, além disso, apresentou estabilidade com valores de 60% a 92% de atividade de emulsificação. Diante do exposto, observa-se que a levedura *C. glabrata* apresenta um excelente potencial biotecnológico para aplicações futuras em processos de biorremediação ambiental.

Palavras-chave: Biossurfactante. Bioremediação. *Candida glabrata*.

1 INTRODUÇÃO

Atualmente as preocupações ambientais e sociais trazem uma atenção para o desenvolvimento de compostos atrativos e que não degradem o meio ambiente. Para reduzir essas preocupações e os custos envolvidos com o combate à poluição, o tratamento de resíduos e a eliminação ou diminuição do consumo de produtos industriais nocivos ao ambiente, faz-se necessário investir em diferentes bioprodutos com alto valor agregado (Santos *et al.*, 2021).

Para atender a essas necessidades, os biossurfactantes são uma excelente alternativa, que vem ganhando relevância como substituto para compostos fabricados por síntese química. Os biossurfactantes são moléculas anfifílicas produzidas por vegetais, animais e microorganismos. Segundo Selva filho *et al* (2023) os biossurfactantes produzidos por microorganismos (leveduras, bactérias e fungos filamentosos) a partir de recursos renováveis, como carboidratos e óleos naturais, são considerados ecológicos devido à sua alta biodegradabilidade e reduzida toxicidade.

Os surfactantes ecológicos demonstram-se menos prejudiciais ao meio ambiente, apresentam alta biodegradabilidade e resistência a diferentes condições ambientais extremas, ao contrário dos surfactantes sintéticos. As Propriedades como detergência, emulsificação, dispersão e solubilização atribuem grande versatilidade a essas biomoléculas, tornando-as uma alternativa comercial promissora (Farias *et al.*, 2021).

Nesse contexto, as leveduras têm sido amplamente estudadas, principalmente devido ao status de GRAS (Generally Recognized as Safe) mostrado por algumas delas (Chaves *et al.*, 2021). Dentre as leveduras utilizadas na produção de biossurfactante, estão as do gênero *Candida* pois eles possuem uma grande eficiência na produção de biossurfactantes em diferentes propriedades, possuindo propriedades de emulsificação, solubilização e dispersão de óleos além de outros compostos, tornando-se aplicável para a indústria. Em diversas pesquisas são estudadas a utilização de espécies de *Candida*, como a *C. glabrata* (Lima *et al.*, 2017).

Sendo assim, é notável que os biossurfactantes são uma grande alternativa para a remediação de ambientes terrestres e aquáticos contaminados por agentes tóxicos como óleo de motor, no entanto, os biossurfactantes apresentam uma baixa participação de mercado devido aos seus altos custos de produção, com isso, algumas alternativas vêm sendo estudadas para reverter esse cenário, dentre elas podem ser citadas a busca por matéria-prima de baixo custo, como resíduos industriais, otimização dos meios de cultura, desenvolvimento de tecnologias de extração, purificação e busca por microrganismos com alto rendimento produtivo (Sarubbo *et al.*, 2022). Diante disso, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial biotecnológico da *C. glabrata* para a produção de biossurfactante utilizando substratos alternativos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Micro-organismo e produção do biossurfactante

A levedura *Candida glabrata* UCP 1002 foi disponibilizada pelo Banco de Culturas do Núcleo de Pesquisas em Ciências Ambientais (NPCIAMB), da Universidade Católica de Pernambuco, para a produção do biossurfactante.

2.2 Meio de produção

A *Candida glabrata* foi cultivada ao meio de produção teve como base: NH_4NO_3 (0,1%), KH_2PO_4 (0,02%), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,02%). Os substratos utilizados foram: óleo residual de fritura 100 (g/L) e bagaço de malte 10 (g/L), com pH final de 5,5. O processo de fermentação para a produção de biossurfactante foi realizado em frascos de Erlenmeyer de 250 mL de capacidade, contendo 100 mL do meio de produção, depois foram incubados 4µL do pré-inóculo. O meio foi mantido sob agitação orbital de 180 rpm durante 144 horas, à temperatura de 28°C.

2.3 Determinação da tensão superficial

As amostras foram centrifugadas a 4500g durante 15 minutos e filtradas para a obtenção do líquido metabólico livre de células. Após esses processos, a tensão superficial do líquido metabólico foi determinada em tensiômetro KSV Sigma 700 (Finland) utilizando o anel de NUOY.

2.4 Determinação da atividade de emulsificação e estabilidade do biossurfactante

O líquido metabólico livre de células, foi testado em diferentes concentrações de NaCl (2,0, 4,0, 6,0, 8,0 e 10,0%), temperatura (5°C, 70°C, 100°C e 120°C) e pH (2,0, 4,0, 6,0, 8,0, 10,0 e 12,0), para determinação da estabilidade da biomolécula produzida. Com isso, a emulsão do óleo-em-água (O/A) foi preparada a partir da homogeneização de 1:1 (v/v) da fase líquida e aquosa, em tubos de ensaio, passando por uma agitação em vórtex por 2 minutos, em temperatura ambiente. A estabilidade da emulsão foi determinada após 24 horas e o índice de emulsificação foi calculado dividindo a altura medida da camada de emulsão pela altura total da mistura e multiplicando por 100, para os óleos: óleo de motor e de soja (ZHU et al., 2019; Cooper and Goldenberg 1987).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Devido a versatilidade dos biossurfactantes e por serem produtos estáveis, a capacidade de atuação na redução da tensão superficial é um dos parâmetros utilizados como critério avaliativo de sua atividade. A tensão superficial é um fenômeno físico que acontece na interface entre duas fases líquidas ou entre ar-líquido. Com isso, a tensão superficial surge nos líquidos como resultado do desequilíbrio entre as forças agindo sobre as moléculas da superfície em relação aquelas que se encontram no interior da solução (Behring et al., 2004). O biossurfactante produzido pela levedura *C. glabrata* apresentou uma excelente redução da tensão superficial da água de 72 mN/m para 31,01 mN/m. Comparando com os resultados presentes na literatura, onde a levedura do gênero *Candida* é amplamente utilizada para a produção de biossurfactante, como é demonstrado nos resultados de Lima *et al.*, (2017), onde o biossurfactante produzido por *Candida glabrata* obteve a tensão superficial de 28,8 mN/m em um meio de contendo 40% resíduos agro-industriais de soro de leite e 20% de licor de milho.

Para a determinação da atividade de emulsificação foi avaliado em relação a estabilidade do líquido metabólico livre de células em diferentes concentrações de pH, NaCl e temperatura. Para o teste da condição de NaCl foi observado que o biossurfactante apresentou mais efetividade para emulsificação do óleo de soja, com valores em torno de 80 % para a condição de 4% de salinidade. Já para o óleo de motor, valores em torno de 70% da sua emulsificação foram observados. Para as condições de diferentes valores de pH. Para as atividades de emulsificação, quando o biossurfactante foi submetido a condições extremas de pH, observou-se que o mesmo permaneceu com uma estabilidade considerável, para emulsificação dos óleos testados (Figura 1). Para os testes de estabilidade do biossurfactante quando

exposto a temperaturas extremas, pode-se observar que o foi mais efetivo para emulsificação do óleo de motor, com valores em torno de 92%, quando exposto a temperaturas em torno de 100°C. Já para o óleo de soja, valores em torno de 66% da emulsificação foram observados (Figura 2).

Segundo Sivakumar *et al.*, (2022), o setor agrícola é o maior produtor de biomassa, portanto, os resíduos gerados após o processamento industrial desse setor englobam subprodutos como bagaços, talos, folhas, cascas e sementes. Já que esses subprodutos são ricos em celulose e hemicelulose, além de alguns compostos como caboidratos e sais minerais que são essenciais para a produção de um biossurfactante.

Figura 1: Determinação da estabilidade do biossurfactante produzido por *Candida glabrata* para óleo de motor e óleo de soja

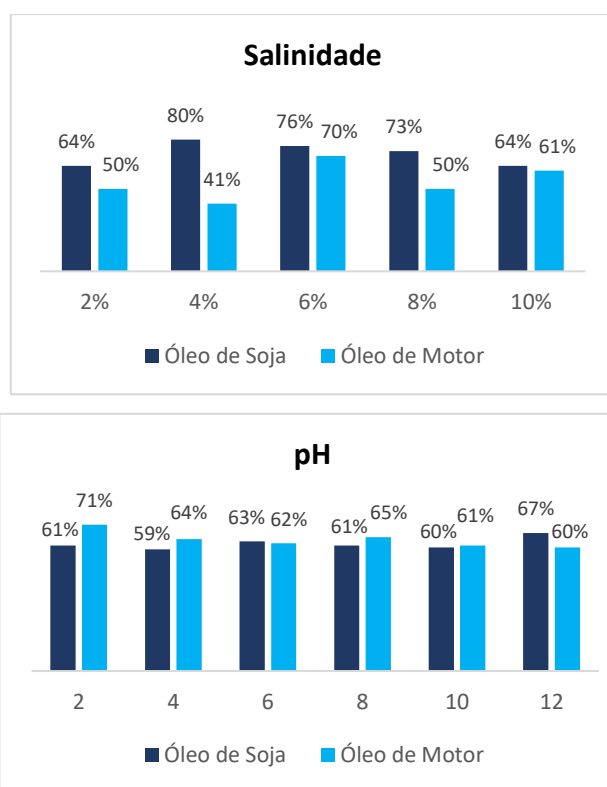
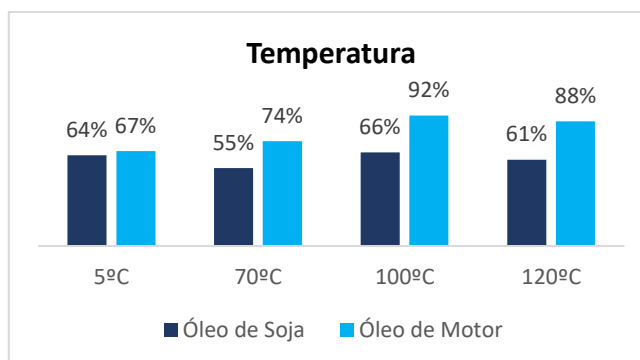


Figura 2: Determinação da estabilidade do biossurfactante produzido por *Candida glabrata* para óleo de motor e óleo de soja



4 CONCLUSÃO

O biossurfactante produzido pela levedura *C. glabrata* apresenta-se como uma molécula estável com excelente potencial biotecnológico para aplicações futuras em processos de controle da poluição ambiental causada por derivados de petróleo.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DAS, M. D. Application of biosurfactant produced by an adaptive strain of *C. tropicalis* MTCC230 in microbial enhanced oil recovery (MEOR) and removal of motor oil from contaminated sand and water. **Journal of Petroleum Science and Engineering**. v. 170. p. 40-48, 2018.

CHAVES, F. S., BRUMANO, L. P., MARCELINO, P. R. F., DA SILVA, S. S., SETTE, L. D., FELIPE, M. G. A. Biosurfactant production by Antarctic-derived yeasts in sugarcane straw hemicellulosic hydrolysate. **Biomass Conversion and Biorefinery**. v. 13. p. 1-8, 2021. DOI: 10.1007/s13399-021-01578-8

COOPER, D. G., GOLDENBERG, B. G. Surface-active agents from two *Bacillus* species. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 53. n. 2. p. 224-229, 1987.

FARIAS, C. B. B., ALMEIDA, F. C. G., SILVA, I. A., SOUZA, T. C., MEIRA, H. M., DA SILVA, R. C. F. S., LUNA, J. M., SANTOS, V. A., CONVERTI, A., BANAT. I. M., SARUBBO, L. A. Production of green surfactants: Market prospects. **Electronic Journal of Biotechnology**. v. 51. p. 28-39, 2017.

LIMA, R. A., ANDRADE, R. F., RODRIGUES, D. M., ARAÚJO, H. W., SANTOS, V. P., CAMPOS-TAKAKI, G. M. Production and characterization of biosurfactant isolated from *Candida glabrata* using renewable substrates. **African journal of microbiology research**. v. 11. n. 6. p. 273-244, 2017.

LUNA, J. M., SARUBBO, L. A., CAMPOS-TAKAKI, G. M. A New Biosurfactant Produced by *Candida glabrata* UCP 1002: Characteristics of Stability and Application in Oil Recovery. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. v. 52. n. 4. p. 785-793, 2009.

PACHECO, C. S. G. R. Ambiente & Sociedade: Concepções, Fundamentos, Diálogos e Práticas para Conservação da Natureza. In: SANTOS, C. V. M., VIEIRA, I. M. M., SANTOS, B. L. P., RUZENE, D. S., SILVA, D. P., PACHECO, C. S. G. R. **Biossurfactante - Conceitos Gerais e Perspectivas Ambiente & Sociedade: Concepções, Fundamentos, Diálogos e Práticas para Conservação da Natureza**. São Paulo: Científica Digital, 2021. p. 319-342. DOI: 10.37885/210604986

SELVA FILHO, A. A. P., CONVERTI, A., SOARES DA SILVA, R. C. F., SARUBBO, L. A. Biosurfactants as Multifunctional Remediation Agents of Environmental Pollutants Generated by the Petroleum Industry. **Energies**. v. 16. n. 3. p. 1209, 2023.

SARUBBO, L. A., SILVA, M. G. C., DURVAL, I. J. B., BEZERRA, K. G. O., RIBEIRO, B. G., SILVA, I. A., TWIGG, M. S., BANAT, I, M. Biosurfactants: Production, properties, applications, trends, and general perspectives. **Biochemical Engineering Journal**, v.181. p.108377, 2022.

SIVAKUMAR, D., SRIKANTH, P., RAMTEKE, P. W., NOURI, J. Agricultural waste management generated by agro-based industries using biotechnology tools. **Global Journal of Environmental Science and Management**, v. 8. n. 2. p.281–296, 2022.

ZHU, Z., WEN, Y., YI, J., CAO, Y., LIU, F., MCCLEMENTS, D. J. Comparison of natural and synthetic surfactants at forming and stabilizing nanoemulsions: tea saponin, Quillaja saponin, and Tween 80. **J. Colloid Interface Sci.** v. 536. p. 80–87, 2019.

6 AGRADECIMENTOS

A agência de fomento, Fundação de Amparo à Ciência e a Tecnologia do estado de Pernambuco- FACEPE e a Universidade Católica de Pernambuco por toda ajuda financeira.

CAPITULO III

ARTIGO II: A SER SUBMETIDO NA REVISTA
MICROORGANISMS

Fator de Impacto: 4.2

PRODUÇÃO DE BIOSSURFACTANTE POR MICRO-ORGANISMOS UTILIZANDO RESÍDUOS PROVINIENTES DE AMBIENTE UNIVERSITÁRIO

PRODUCTION OF BIOSURFACTANT BY MICROORGANISMS USING WASTE FROM THE UNIVERSITY ENVIRONMENT

Elannie Salvina Costa da Silva

Mestranda em Desenvolvimento em Processos Ambientais
Universidade Católica de Pernambuco
Email: elannie.salvina@gmail.com

Pollyana Pereira do Nascimento

Doutoranda em Biotecnologia Industrial
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Email: pollyanapereiradonascimento@gmail.com

Leonie Asfora Sarubbo

Programa de Pós-graduação em Desenvolvimento de Processos Ambientais Universidade
Católica de Pernambuco
Email: leonie.sarubbo@unicap.br

Raquel Diniz Rufino

Programa de Pós-graduação em Desenvolvimento de Processos Ambientais Universidade
Católica de Pernambuco
Email: raquel.rufino@unicap.br

RESUMO

A crescente geração de resíduos agroindustriais, como o bagaço de malte e o óleo residual de fritura, representa um impacto ambiental significativo quando descartados de forma inadequada. No entanto, esses materiais são ricos em carboidratos e lipídios, nutrientes essenciais que podem ser convertidos em produtos de alto valor agregado, como na aplicação de biossurfactante microbiano. Desse modo, o presente estudo avaliou a produção de biossurfactante pela levedura *Candida glabrata* UCP 1002 utilizando resíduos agroindustriais (bagaço de malte e óleo de algodão residual) e investigando sua aplicação na biorremediação de solo arenoso contaminado por hidrocarbonetos. O biossurfactante foi produzindo, por meio de um planejamento fatorial 2^3 , com as variáveis respostas: tensão superficial e atividade de emulsificação, realizando análise de concentração micelar crítica (CMC), caracterização do biossurfactante, genotoxicidade, além das aplicações em testes de remoção de hidrocarbonetos presentes em solo arenoso. O resultado em relação ao planejamento fatorial 2^3 demonstrou que das 7 condições testa o ensaio 2 obteve um valor da tensão superficial de 36,10 mN/m, apresentando uma concentração micelar crítica (CMC) de 0,2 g/L, com um rendimento de 25,23 g/L. A análise do índice de emulsificação obteve valores variáveis entre 46% (óleo de soja) e 87% (óleo de motor), o composto revelou composição química de natureza glicolípídica. Posteriormente, o biossurfactante isolado foi testado em relação a sua toxicidade, onde

demostrou ausência de toxicidade nas concentrações: CMC, $\frac{1}{2}$ CMC e 2 CMC, para as células das raízes da cebola (*Allium cepa*), para os testes de remoção de óleo de motor (pós uso) no solo arenoso em ensaios estáticos e dinâmicos foram promissores, obtendo valores entre 47% e 53% das concentrações do biossurfactante isolado no teste estático, já para o teste dinâmico o biossurfactante obteve valores significativos entre 98% e 99% em todas as suas concentrações, após esse processo foi realizado um teste cinético para obtenção de amostras do óleo removido em intervalos de tempo de até 48h, selecionando as melhores condições dos testes estáticos (CMC), com valor de 53% e dinâmicos ($\frac{1}{2}$ CMC) com valor de 99% de remoção. A partir desse teste o foi possível notar que ambas as condições obtiveram um percentual de remoção maior que 80%, sendo eficientes em diferentes intervalos de tempo. Conclui-se, portanto, que os substratos agroindustriais selecionados são eficientes para a produção do biossurfactante, conferindo-lhe relevante potencial biotecnológico para aplicações em biorremediação ambiental.

Palavras-chave: Biossurfactante, *Candida glabrata*, Contaminantes, Resíduos Agroindustriais.

ABSTRACT

The increasing generation of agro-industrial residues, such as brewer's spent grain and waste frying oil, represents a significant environmental impact when improperly discarded. However, these materials are rich in carbohydrates and lipids, essential nutrients that can be converted into high-value-added products, such as in the application of microbial biosurfactants. Thus, the present study evaluated the production of biosurfactant by the yeast *Candida glabrata* UCP 1002 using agro-industrial residues (brewer's spent grain and residual cottonseed oil) and investigated its application in the bioremediation of hydrocarbon-contaminated sandy soil. The biosurfactant was produced through a 2^3 factorial design, with the response variables being surface tension and emulsification activity. Analyses included critical micelle concentration (CMC), biosurfactant characterization, genotoxicity, and applications in hydrocarbon removal tests from sandy soil. The results of the 2^3 factorial design showed that among the 7 conditions tested, assay 2 achieved a surface tension value of 36.10 mN/m, presented a critical micelle concentration (CMC) of 0.2 g/L, and yielded 25.23 g/L. The emulsification index analysis showed variable values between 46% (soybean oil) and 87% (motor oil). The compound revealed a glycolipid chemical composition. Subsequently, the isolated biosurfactant was tested for toxicity, showing no toxicity at concentrations of CMC, $\frac{1}{2}$ CMC, and 2 CMC for onion root cells (*Allium cepa*). The motor oil (used oil) removal tests in sandy soil under static and dynamic conditions were promising, achieving values between 47% and 53% for the isolated biosurfactant concentrations in the static test. In the dynamic test, the biosurfactant achieved significant values between 98% and 99% across all concentrations. After this process, a kinetic test was performed to obtain samples of the removed oil at time intervals of up to 48 hours, selecting the best conditions from the static tests (CMC), with a 53% removal value, and dynamic tests ($\frac{1}{2}$ CMC), with a 99% removal value. From this test, it was possible to observe that both conditions achieved a removal percentage greater than 80%, being efficient at different time intervals. It is concluded, therefore, that

the selected agro-industrial substrates are efficient for biosurfactant production, conferring relevant biotechnological potential for environmental bioremediation applications.

Keywords: Biosurfactant, *Candida glabrata*, Contaminated, Agro-industrial Waste

1 INTRODUÇÃO

Em virtude da expressiva produção agrícola no Brasil, o país gera uma vasta quantidade e diversidade de resíduos agroindustriais, os quais são caracterizados pela sua ampla disponibilidade e fácil acesso, um exemplo disso é o bagaço de malte e o óleo de fritura residual. O óleo de fritura residual, possui um aumento considerável em relação aos outros resíduos orgânicos, acelerando um alerta ambiental. Tendo em vista, que a degradação do óleo durante os sucessivos reaquecimentos inviabiliza sua reutilização e o classifica como um poluente de alto impacto (Lopes *et al.*, 2024). O mesmo se aplica ao bagaço de malte, cujo as indústrias cervejeiras geram 20 kg para cada 100 L de cerveja, proporcionando um impacto ambiental em ecossistemas aquáticos e terrestres, sendo um resíduo passivo ambiental que exige soluções urgentes (Arantes *et al.*, 2024).

Nesse cenário, os resíduos são destacados de forma inadequada sem tratamento, o que resulta em problemas ambientais, por outro lado, muitos desses resíduos agroindustriais possuem valor nutricional significativo. Esses nutrientes presentes criam um ambiente favorável ao crescimento microbiano, permitindo sua utilização como substrato em processo de fermentação por diferentes micro-organismos (Begum *et al.*, 2023).

Considerando que esses resíduos apresentam na sua composição carboidratos, proteínas, fibras alimentares, lipídios e diversos nutrientes que permitam o seu uso (Silva *et al.*, 2024; Nascimento *et al.*, 2025). Podendo ser usados substratos alternativos e de baixo custo para produção de biossurfactante microbiano. Sendo uma abordagem ecologicamente correta, reduzindo o custo de fabricação e incentivando a utilização desses resíduos, promovendo a bioeconomia circular, além de contribuir com alcance de alguns Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) (Gaur *et al.*, 2022).

Diante disso, os biossurfactantes microbianos se destacaram como compostos naturais com diversas vantagens em relação aos seus equivalentes sintéticos. Contendo propriedades superiores como a sua biodegradabilidade, alta compatibilidade, toxicidade reduzida, diversidade estrutural e capacidade de

demonstrar atividade superficial. Além disso, eles mantêm sua estabilidade mesmo em condições extremas de pH, temperatura e altas concentrações salinas (Silva *et al.*, 2024; Datta *et al.*, 2024).

Devido a esse seu potencial, o biossurfactante possuem diversas aplicações industriais, como na indústria petroquímica, cosméticos, na agricultura para constituição de herbicidas, fabricação de itens de higiene pessoal, detergentes, papéis, e a indústria alimentícia, para biorremediação (Santos *et al.*, 2023).

Diversos biossurfactantes microbianos de origem fúngica e bacteriana, podem auxiliar no processo de biorremediação de substâncias residuais como petróleo e metais pesados. Os surfactantes naturais produzidos por micro-organismos são classificados quanto a sua composição química sendo eles: glicolipídios, lipopeptídeos, fosforolipídeos, poliméricos e particulados (Silva *et al.*, 2024). Portanto nota-se, que as leveduras têm sido amplamente estudadas, principalmente devido ao status de GRAS (Generally Recognized as Safe) mostrado por algumas delas (Chaves *et al.*, 2021).

Diante disso, o presente estudo avalia a eficiência da levedura *C. glabrata* UCP1002 na produção de biossurfactante, usando resíduos industriais como matéria-prima, além de investigar o seu potencial em biorremediação de óleo em solo contaminado.

2 MATERIAIS E METODOS

2.1 Substratos

As amostras do bagaço de malte foram cedidas pelo laboratório de Engenharia Química da Universidade Católica de Pernambuco (UNICAP), no qual foram realizados todos os processos de secagem e peneiramento das amostras, de acordo com Massardi; Massini; Silva (2020). Sendo assim, óleo de algodão residual foi fornecido pelo estabelecimento de comércio de alimentos localizado na Universidade Católica de Pernambuco.

2.2 Micro-organismo

A *Candida glabrata* UCP 1002 foi fornecido pelo Centro Multiusuário de Análise e Caracterização de Biomoléculas e Superfície de Materiais (CEMACBIOS) da Universidade Católica de Pernambuco, onde foi cultivada em meio solido a 27°C durante 48h-72h, no qual, teve as suas células transferidas para frascos de Erlenmeyer de 250 mL contendo 100 mL dos seus respectivos meios líquidos. Yeast Mannitol Broth (YMB), sendo incubado em uma agitação orbital de 200 rpm a 24 horas em 28°C. Foi realizada leitura de células pela câmara de Neubauer do pré-inóculo, a fim de acompanhar o crescimento microbiano, introduzindo 1% do pré-inóculo ao meio de produção.

2.3 Meio de Produção

O micro-organismo foi cultivado em meio de produção que teve como base: NH_4NO_3 (0,1%), KH_2PO_4 (0,02%), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,02%). Os substratos utilizados foram: óleo de algodão residual e o bagaço de malte, em diferentes concentrações. Foi realizado um planejamento fatorial 2^3 com 3 pontos centrais, com objetivo de avaliar os efeitos correspondentes das concentrações variáveis do bagaço de malte e o óleo de algodão residual, para a determinação da melhor condição de produção do biossurfactante. tendo variáveis resposta: tensão superficial, sendo observado posteriormente a atividade de emulsificação da melhor condição, de acordo com Rufino *et al.* (2013). (Tabela 1). Os valores das variáveis independentes dos níveis -1, +1 e ponto central são demonstrados de forma mais detalhada na Tabela 2. O pH foi ajustado 5,5 com a solução de HCl 3 Mol. O processo de fermentação para a produção de biossurfactante foi realizado em frascos de Erlenmeyer 250 mL de capacidade, contendo 100 mL do meio de produção, depois foram incubados 1% do pré-inóculo. Mantido sob uma agitação orbital de 200 rpm durante 144 horas, à temperatura de 28°C.

Tabela 1: Matriz do delineamento experimental, das variáveis independentes nos níveis -1, +1 e ponto central

Nível	Bagaço de Malte (g/L)	Concentração do óleo de algodão residual (g/L)
-1	5	100
0	7,5	150
+1	10	200

Tabela 2: Valores das variáveis independentes do planejamento fatorial -1, +1 e ponto central

Ensaio	Bagaço de Malte (g/L)	Concentração do óleo de fritura residual (g/L)
1	-1	-1
2	+1	-1
3	-1	+1
4	+1	+1
5	0	0
6	0	0
7	0	0

2.4 Determinação da Tensão superficial

As amostras foram centrifugadas a 4500g durante 15 minutos e filtradas para a obtenção do líquido metabólico livre de células. Após esse processo, a tensão superficial do biossurfactante foi determinada em tensiômetro KSV Sigma 700 (Finland) utilizando o anel de NUOY.

2.5 Avaliação do Índice de Emulsificação (IE)

De acordo com a metodologia aplicada por Cooper e Goldenberg (1897), O líquido metabólico foi testado em diferentes condições, com o objetivo de avaliar a

atividade de emulsificação. Com isso, a emulsão do óleo-em-água (O/A) foi preparada a partir da homogeneização de 1:1 (v/v) da fase líquida e aquosa, em tubos de ensaio, passando 2 mL do líquido fermentado centrifugado para tubos de ensaio e acrescentando dois tipos de óleo: óleo de motor e óleo de soja. Passando por uma agitação em vórtex por 2 minutos, em temperatura ambiente. A estabilidade da emulsão foi determinada após 24 horas e o índice de emulsificação foi calculado de acordo com a Equação 1.

$$\text{Índice de Emulsificação (\%)} \text{ IE} = \frac{He}{Ht} \times 100 \quad (\text{Equação 1})$$

Onde:

He = altura da emulsificação (cm)

Ht = altura total da solução (cm)

2.6 Caracterização do Biossurfactante

2.6.1 Isolamento e Purificação do Biossurfactante

A extração do biossurfactante foi realizada através de uma proporção de 1:4 (v/v) de líquido metabólico puro para o solvente utilizado (acetado de etila). O procedimento foi realizado uma única vez, posteriormente foi centrifugado a 4500 rpm durante 15 minutos, após esse processo a substância foi levada para um funil de decantação para a separação da fase orgânica da fase aquosa.

A substância foi lavada com uma solução saturada de cloreto de sódio (NaCl), descartando qualquer fase aquosa aparente, foi acrescentado sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4), para retirada de água presente na substância. Por fim, a amostra foi levada para uma placa de aquecimento, com a finalidade de evaporar o solvente presente e obtenção do biossurfactante purificado (Silva *et al.*, 2023).

2.6.2 Espectrometria de Infravermelho Transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros FTIR foram registrados no modo de transmissão, utilizando discos de KBr em um espectrômetro Spectrum 400 (Perkin Elmer, Waltham, MA, EUA) (Santos *et al.*, 2021).

2.6.3 Espectrometria por Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

A caracterização da estrutura química e dos componentes da amostra do biossurfactante isolado foi determinado usando espectroscopia de ressonância magnética nuclear. A amostra isolada e purificada foi dissolvida em clorofórmio deuterado (CDCl_3), sendo introduzido em tubos de ressonância magnética nuclear e analisadas (Santos *et al.*, 2021).

2.7 Determinação da Concentração Micelar Crítica (CMC)

A CMC foi determinada de acordo com Rufino *et al.* (2013), em um tensiômetro automático (modelo Sigma 70-KSV Ltd., Finland) utilizando-se o anel de NUOY.

2.8 Determinação da toxicidade das soluções dos biossurfactantes

O teste foi realizado através da metodologia adaptativa de Parvan *et al.* (2020), sendo utilizado células de cebolas (*Allium cepa*) para avaliação de toxicidade com a ocorrência de micronúcleos presentes nas células. As cebolas comerciais foram adquiridas em um mercado local, respeitando padrões de tamanho e evitando bulbos deteriorados. As raízes das cebolas foram removidas com auxílio de bisturi, sendo mantidos os bulbos em contato com água destilada em um período de 3 dias para permitir o desenvolvimento de novas raízes. Após esse período os bulbos foram mantidos nas concentrações do biossurfactante por 3 dias, em seguida as raízes foram fixadas em líquido de Carnoy por 12-24 h, suas pontas foram removidas e colocadas em lâmina de vidro para análise microscópica. Sendo adicionada uma gota de corante de orceína acética a 2% em cada ponta de raiz na adição de uma lamínula. Diante disso, foi aplicado de forma suave uma pressão para a quebra da ponta da raiz para expor as células e observa-las no microscópio óptico com objetiva de 40x.

2.9 Caracterização do solo

O solo arenoso utilizado foi caracterizado de acordo com Nascimento *et al.* (2025). Onde o autor apresentar testes de medidas de distribuição granulométricas,

limite de liquidez, plasticidade, densidade específica das partículas e compactação, sendo caracterizados quimicamente tanto antes quanto depois da contaminação do poluente.

2.10 Processo de remoção do composto oleoso derivado do petróleo

O processo de remoção do contaminante foi realizado utilizando as concentrações das soluções do biossurfactante: $\frac{1}{2}$ CMC (0,1), CMC (0,2), 2x CMC (0,4), o líquido metabólico livre de células, além do surfactante químico dodecil sulfato de sódio (SDS) como controle comparativo e água destilada como controle branco; em experimentos estáticos e dinâmicos. Após a seleção da melhor condição de remoção do contaminante foi determinada a cinética de remoção, coletando as amostras do óleo removido em diferentes intervalos de tempo por 48h (Rufino *et al.*, 2013). O contaminante utilizado (óleo de motor pós uso), foi obtido em oficinas automotivas utilizado para contaminação do solo arenoso.

2.10.1 Remoção do óleo de motor por teste estático com biossurfactante

O teste de remoção foi realizado através de colunas de vidro (medindo 55 x 6cm) obtendo 200g de areia contaminada pelo óleo de motor (pós uso), com uma concentração de 10%. Foram adicionados 200 mL das concentrações do biossurfactante as colunas, sendo as concentrações correspondentes: $\frac{1}{2}$ x CMC, CMC, 2 x CMC, além do líquido metabólico, controle positivo (surfactante químico) e controle negativo (água destilada). A percolação das amostras foi observada após um período de 24h, sendo coletadas para avaliar o teor do óleo de motor (pós uso) mediante a análise gravimétrica. Foi utilizado hexano para auxiliar na extração do óleo de motor (pós uso) em um funil de separação, sendo evaporado o hexano para determinação do percentual de remoção do óleo removido (Rufino *et al.*, 2013).

2.10.2 Remoção do óleo de motor por teste dinâmico com biossurfactante

Foi utilizado 50g de solo saturado contaminado com 10% de óleo de motor (pós uso). Após a contaminação o solo foi transferido para frascos de Erlenmeyer de 250 mL, onde foi adicionado 50 mL das condições do biossurfactante (mencionadas

anteriormente), além dos controles avaliados (sulfactante químico e água destilada). Posteriormente todos os frascos foram mantidos em uma agitação orbital por 200 rpm em uma temperatura de 28 °C por 24 h, em seguida as amostras foram centrifugadas e 4700 rpm por 20 min. Sendo avaliada a quantidade de poluentes remanescente no solo tratado com o biossurfactante por meio de gravimetria, considerando a massa de material extraído no solo utilizando hexano (Rufino *et al.*, 2013).

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 Avaliação da Tensão Superficial

Os testes foram realizados em triplicata, para a determinação da melhor condição em relação a sua tensão superficial. Conforme demonstrado na Tabela 3, através do planejamento fatorial foi possível observar, que a levedura *Candida glabrata* UCP 1002 junto com os substratos (bagaço de malte e óleo de algodão residual) utilizados como fonte de carbono, foram capazes de produzir biossurfactante com excelente redução da tensão superficial, obtendo valores de 36 mN/m a 41 mN/m demonstrando que as variáveis escolhidas possuem uma grande influência na redução da tensão superficial e produção do biossurfactante.

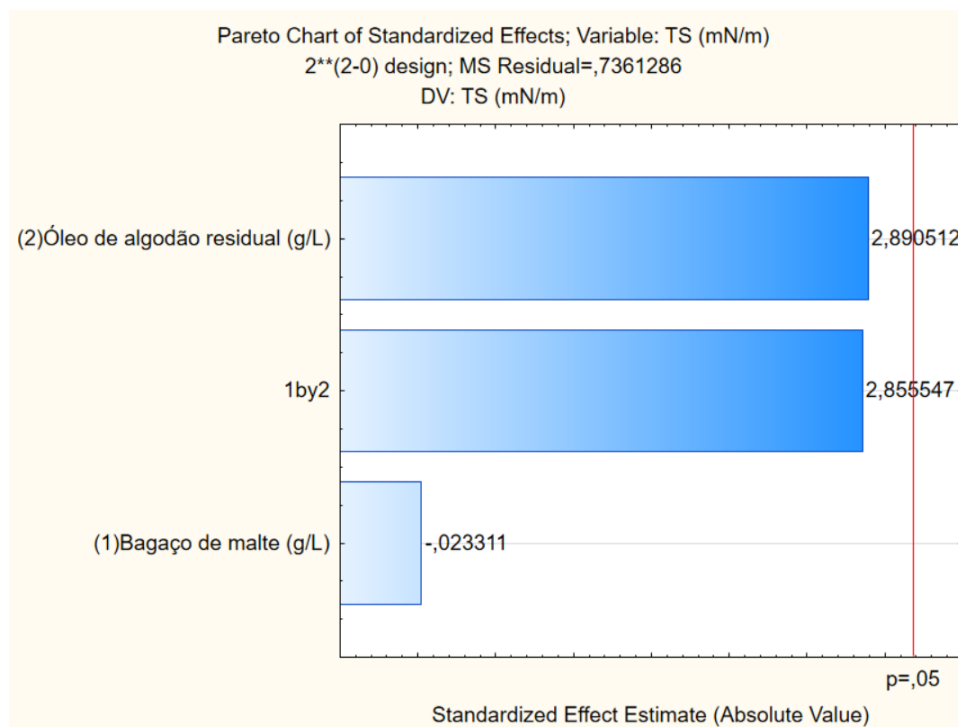
Os melhores resultados para redução da tensão superficial ocorreram nas condições 1 a 3 do planejamento, sendo o Ensaio 2 o que continha o meio formulado por bagaço de malte (10 g/L) e óleo de algodão residual (100 g/L), apresentando a melhor condição com redução da tensão superficial de 50mN/m para 36,10 mN/m da tensão superficial.

Além disso, foi realizada uma análise estatística por meio de um *software Statistica®* 6.0, onde foram observados os resultados obtidos pelo cultivo, avaliando a qual das variáveis obteve maior influência na produção. As variáveis (Inoculo, Óleo de algodão residual e Bagaço de malte) isoladas exerceram influência significativa na redução da tensão superficial: ao nível de significância de 95%, no entanto, observa-se que apenas a concentração de óleo de algodão residual apresentou impacto significativo sobre a tensão superficial, ultrapassando o valor crítico de referência para $p=0,05$. O efeito da variável bagaço de malte apresentou não foi significativo do ponto de vista estatístico, indicando que, dentro da faixa estudada, essa variável isolada não exerceu influência sobre a variável resposta (Figura 1).

Tabela 3: Valores das variáveis independentes do planejamento fatorial nos níveis -1, +1 e no ponto central. Variável resposta: tensão superficial após 144 horas de cultivo.

Ensaio	Bagaço de Malte (g/L)	Concentração do óleo de algodão residual (g/L)	Tensão superficial (mN/m)
1	-1	-1	38,57
2	+1	-1	36,10
3	-1	+1	38,60
4	+1	+1	41,03
5	0	0	39,71
6	0	0	39,71
7	0	0	39,71

Figura 1: Gráfico de Pareto com variáveis que apresentam influencia na redução da tensão superficial por *Candida glabrata* UCP 1002 em cultivo estatístico, ao nível de significância de 95%



Embora esse comportamento indique que o bagaço de malte isoladamente não altere a tensão superficial, sua presença modula o efeito do óleo de algodão residual sobre a resposta.

Como é demonstrado em alguns resultados, onde o biossurfactante produzido pela mesma levedura *C. glabrata* obteve a tensão superficial de 28,8 mN/, em um meio formulado com 40% de resíduos agro-industriais de soro de leite e 20% de licor de milho (Lima *et al.*, 2017). Em outro trabalho Silva *et al.* (2024) obteve resultados promissores com seu biossurfactante produzido por *C. glabrata* obtendo uma redução da tensão superficial de 29 mN/m.

Segundo Akbari *et al.*, (2018), bons biossurfactantes são capazes de reduzir a tensão superficial da água de 72 mN/m para 35 mN/m. Para isso é necessário que exista uma otimização do bioprocessamento que consequentemente influencia no rendimento total da produção (Asgher *et al.*, 2020).

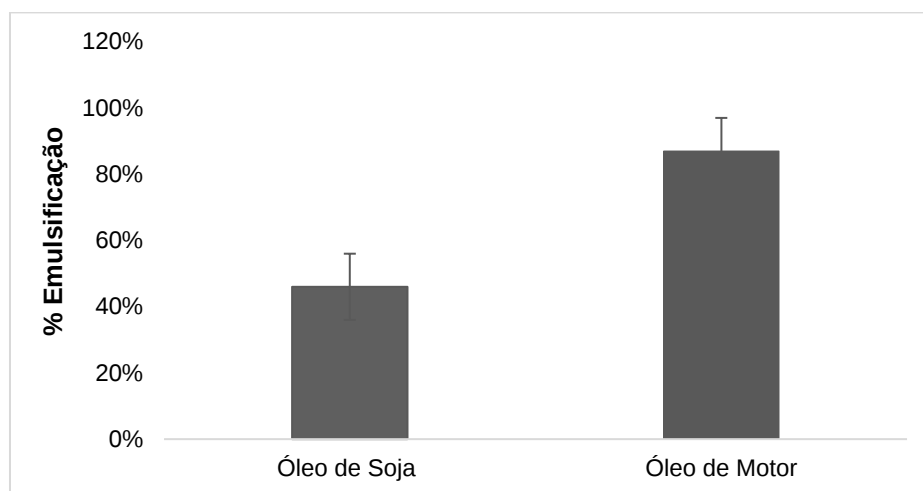
3.2 Atividade de Emulsificação

Após os resultados do planejamento fatorial, foi selecionada a melhor condição em relação a variável resposta (tensão superficial), para demais análises como a atividade de emulsificação, onde o biossurfactante produzido pela *C. glabrata* UCP 1002 apresentou um excelente índice de emulsificação com 87% para o óleo de motor (pós-uso) e 46% para o óleo de soja (Figura 2). Esses resultados mostram ser semelhantes aos de Selva Filho *et al.* (2024) e Oliveira *et al.* (2025), no qual, apresentam um índice de emulsificação para óleo de motor (pós-uso) muito semelhantes entre (95,43% e 86,6%) para um biossurfactante produzido por *S. bombicola*. Já Rocha Junior *et al.* (2019) obteve um valor de 92% da emulsificação para óleo de motor usado, do seu biossurfactante por *Candida tropicalis*.

Segundo Marinho *et al.* (2022), a produção de biossurfactante por micro-organismos a partir de resíduos industriais, demonstra uma alternativa para a produção de biopolímeros com atividade de emulsificação, possibilitando aplicações futuras no controle da poluição causada por hidrocarbonetos, em ecossistemas terrestres e aquáticos.

Tendo em vista, que emulsificação é uma propriedade extremamente importante dos biossurfactantes, no qual possui capacidade de emulsificar e solubilizar hidrocarbonetos ou compostos insolúveis em água, facilitando e mantendo a mistura de um líquido em outro (Liu *et al.*, 2019). Essa propriedade garante que as moléculas hidrofóbicas se misturem em meio aquoso, sendo fundamental para processos de biorremediação (Khan *et al.*, 2017).

Figura 2: Determinação do IE (Índice de emulsificação) do biossurfactante produzido por *Candida glabrata* UCP 1002, formulado com 10g/L de bagaço de malte e 100 g/L de óleo de algodão residual, em óleo de motor e soja.



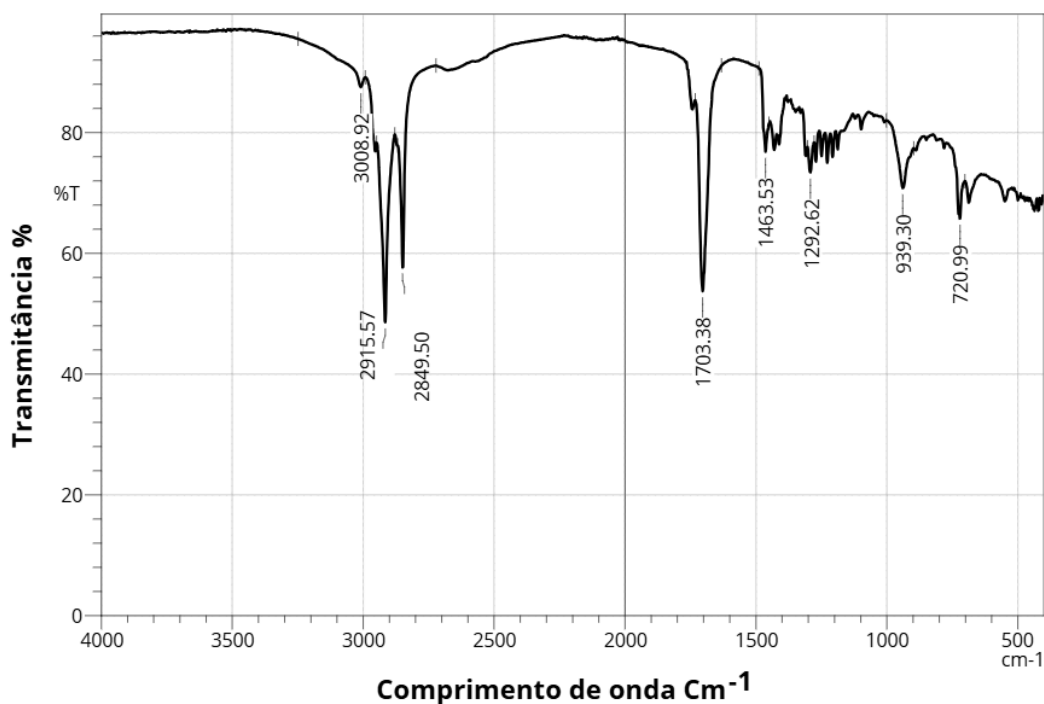
3.3 Caracterização Estrutural do Biossurfactante

A Figura 3 mostra os resultados obtidos da análise por FTIR do biossurfactante, no qual revelou a presença de diversas bandas características de grupos funcionais típicos de compostos anfifílicos. A banda em 1703 cm^{-1} confirma a presença de grupo carbonila ($\text{C}=\text{O}$) presente em ésteres, ácidos graxos livres ou lipídios, apresentando natureza lipídica do composto. Bandas intensas de 2915 cm^{-1} , 2849 cm^{-1} e 3008 cm^{-1} indicativo de cadeias lipídicas longas.

A banda de 1463 cm^{-1} , pode estar associada às deformações angulares de grupos CH_2/CH_3 , enquanto 1292 cm^{-1} indicam estiramentos assimétricos de ligações $\text{C}-\text{O}-\text{C}$, sugerindo a presença de ésteres de açúcares. Já a banda 939 cm^{-1} indica uma possível relação à deformação do grupo $=\text{C}-\text{H}$, típico de ligações insaturadas.

A banda observada em $720,99\text{ cm}^{-1}$ indica a presença de longas cadeias alifáticas, típicas de compostos com estrutura surfactante.

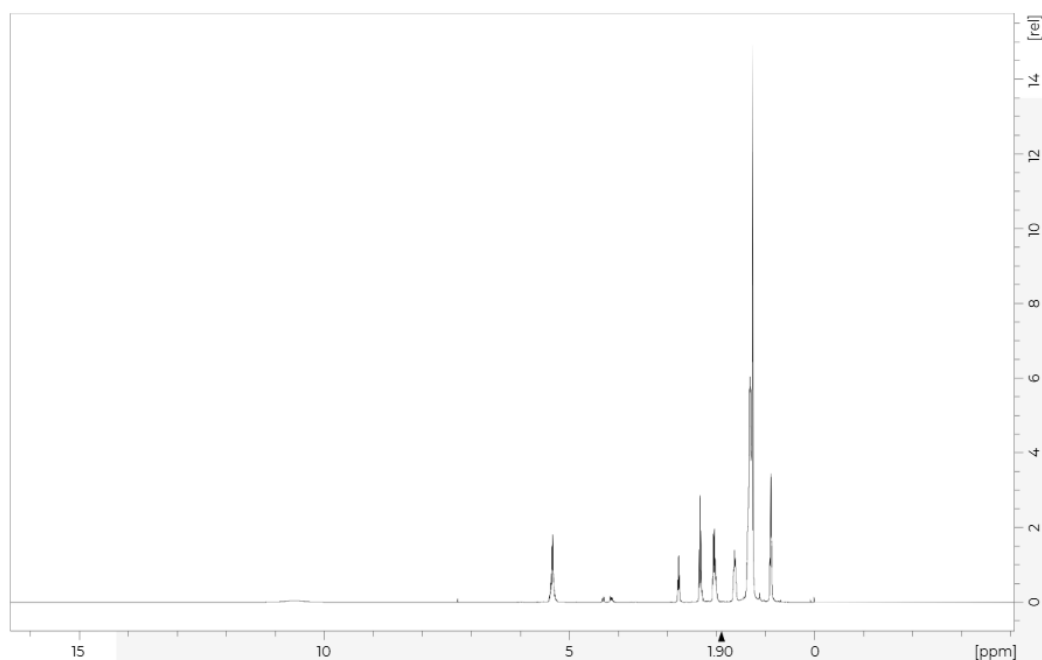
Figura 3: Espectro FT-IR do biossurfactante produzido por *C. glabrata* UCP 1002 cultivada em meio contendo 10 g/L de bagaço de malte e 100 g/L de óleo de algodão residual.



O espectro de RMN de hidrogênio (^1H) apresenta múltiplos sinais na região entre 0.8-1.5 ppm que são atribuídos a prótons de cadeias lipídicas longas, confirmando a presença de grupos metila e metileno típicos de ácidos graxos. Sinais entre 1.9- 2.5 ppm indicam provável presença $-\text{CH}_2-\text{C}=\text{O}$ próximo a grupos carbonila ou insaturados.

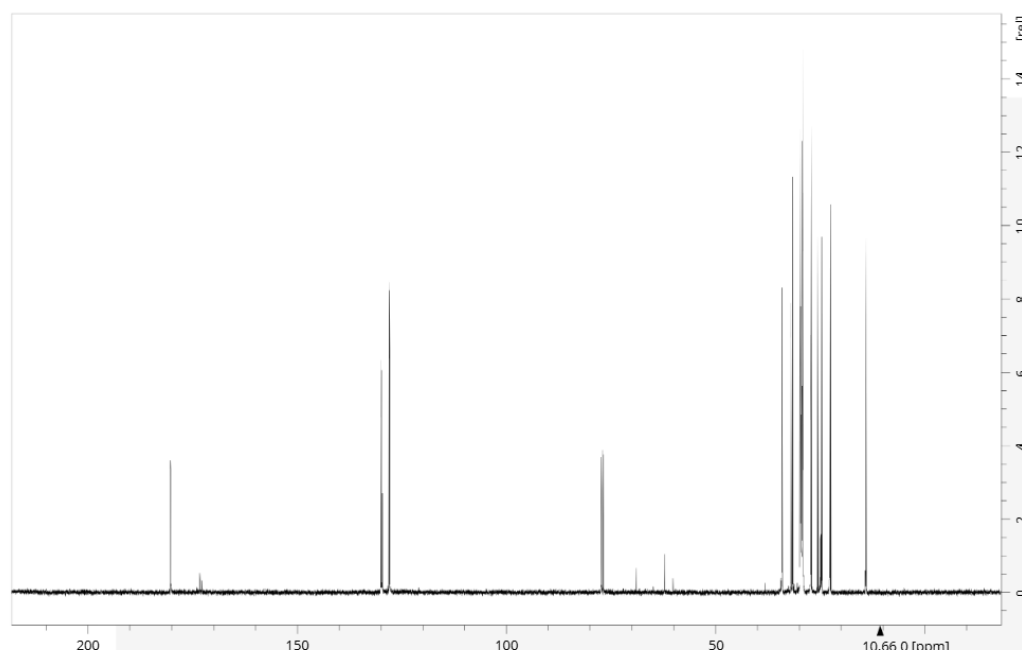
Nos sinais entre 3.0- 4.5 ppm indicam a presença de prótons em carbonos ligados a oxigênio ($-\text{CH}-\text{O}-$), como ocorre em açúcares ou unidades glicosídicas, sugerindo que o biossurfactante contém porções hidrofílicas derivadas de açúcares ou álcoois. Enquanto nos sinais de 4.5- 5.9 ppm prótons anoméricos ligado ao grupo carbonila (Figura 4).

Figura 4: RMN de H do biossurfactante produzido por *C. glabrata* UCP 1002 cultivada em meio contendo 10 g/L de bagaço de malte e 100 g/L de óleo de algodão residual.



O espectro de RMN de carbono (^{13}C) apresenta sinais intensos nas regiões de 170- 185 ppm, característicos de grupos carbonilas ($\text{C}=\text{O}$), reforçando a presença de ácidos graxos ou ésteres. Os sinais em torno de 90- 110 ppm indicam a presença de carbonos $-\text{CH}-\text{O}-$ anéis de açúcar. 10- 40 ppm indicam carbonos metílicos e metilênicos de longas cadeias alifáticas ($-\text{CH}_3$ e $-\text{CH}_2-$) (Figura 5).

Figura 5: RMN de Carbono do biossurfactante produzido por *C. glabrata* UCP 1002 cultivada em meio contendo 10 g/L de bagaço de malte e 100 g/L de óleo de algodão residual.



Observa-se que a conjugação dos dados de FTIR e RMN indica que o biossurfactante produzido por *Candida glabrata* é um composto do tipo glicolípido, contendo cadeias alifáticas longas ligadas a porções hidrofílicas, possivelmente com unidades glicosídicas. Muitos estudos de biossurfactante produzido por levedura do gênero *Candida*, demonstram esse tipo de classificação.

Como por exemplo, o biossurfactante sintetizada pela *Candida bombicola*, formulado em meio contendo 6% de resíduo da indústria de óleo vegetal e 1% de ácido glutâmico, apresentou natureza glicolípida (Nascimento *et al.*, 2025). Bastos *et al* (2024), avaliou um biossurfactante produzido pela levedura do gênero *Candida sp.* isolada de efluentes têxteis e cultivado por 4% de glicose, característica de um sophorolípídios, o mesmo se encaixa para El-Sheshtawy *et al.* (2016), que detectou estruturas características no biossurfactante da *C. albicans*, no qual indicava se tratava de um sophorolípídeo, sendo assim um surfactante glicolípido. Já em outro estudo com a *C. glabrata*, observou a presença de ácido graxo de cadeia longa, com terminal carboxílico, apresentando uma estrutura característica de um glicolípido (Silva *et al.*, 2024).

3.4 Concentração micelar crítica (CMC)

Para a determinação da concentração micelar crítica (CM) do biossurfactante isolado, foi pesado 0,1g do material sendo diluído com água destilada para uma concentração inicial de 5 g/L. A partir disso, o biossurfactante produzido pela levedura *C. glabrata* atingiu a CMC em 0,2 g/L, resultando em uma tensão superficial de 31,36 mN/m, com um rendimento de 25,23 g/L.

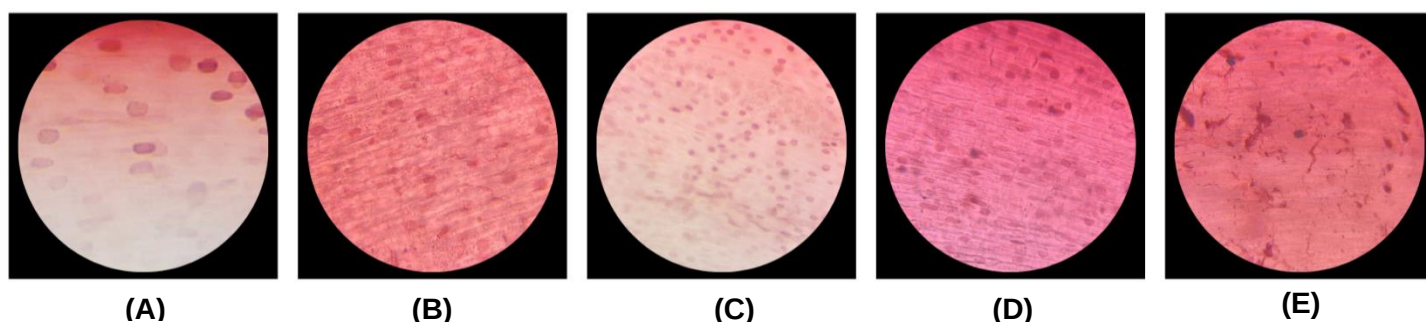
A literatura evidencia a versatilidade dos biossurfactantes produzidos por difentes espécies de *Candida* sob distintas condições de cultivo, o que corrobora o potencial desses micro-organismos para a síntese de biossurfactantes com propriedades relevantes (Silva *et al.*, 2025)

Como por exemplo Lima *et al.* (2024), que obteve uma CMC do seu biossurfactante produzido a partir do micro-organismo *C. lipolytica* UCP 0988 de 0,5 g/L, com um rendimento de 12 g/L.

3.5 Avaliação de toxicidade das composições do biossurfactante

Os resultados obtidos através desse experimento analisou que o biossurfactante produzido pela levedura *C. glabrata* apresentou ausência de anomalias e formações de micronúcleos nas células vegetais para ambas as concentrações do biossurfactante. Demonstrando que a levedura utilizada não apresenta efeitos de genotoxicidade. Conforme observado na figura 6.

Figura 6: Imagens de microscopia óptica (aumento: 40×) de lâminas de raiz de cebola (*Allium cepa*) expostas a formulações contendo um biossurfactante isolado de *Candida glabrata* UCP 1002 em diferentes concentrações: **(A)** água destilada (controle); **(B)** CMC 0,2 g/L; **(C)** ½ CMC (0,01 g/L); **(D)** 2 × CMC (0,4 g/L); **(E)** Sufactante químico (controle).



A figura 6A, apresenta as células expostas à água destilada, utilizada no experimento como controle negativo, portanto é possível observar que as células das raízes permaneceram com a sua morfologia intacta e sem alterações evidentes, obtendo ausência de dano celular com a presença de micronúcleos. O mesmo observa-se nas figuras 6B-D, evidenciando que raízes expostas as soluções do biossurfactante permaneceram preservadas diante a sua morfológica das células vegetais sem evidências de toxicidade ou dano estrutural significativo, como por exemplo a formação de micronúcleos ou anomalias celulares. As imagens sinalizam que as concentrações testadas do biossurfactante (CMC, $\frac{1}{2}$ CMC e 2x CMC), não obtiveram ocorrência negativa sobre a integridade celular, demonstrando que o biossurfactante não apresenta toxicidade nas doses testadas.

Diferente do que é mostrado na figura 6E, onde as raízes foram expostas ao surfactante químico e através disso, é possível observar a deformação das células vegetais com ocorrências de necrose das células e micronúcleos, evidenciando sinais de toxicidade.

Conforme relatado por diversos pesquisadores, o teste de genotoxicidade com *Allium cepa* é amplamente implementado à diversas análises, como na avaliação de toxicidade de medicamentos e da qualidade da água, como análise de plantas medicinais. Em algumas análises esse mesmo método sensível foi aplicado e demonstrou a toxicidade de moléculas pesticidas em *Allium cepa* (Parvan *et al.*, 2020).

Tendo em vista, que esse método conseguiu detectar aberrações cromossômicas, troca de cromátides-irmãs e micronúcleos. Por isso, o ensaio cometa e afirmado por estudiosos como a análise mais específica de danos ao DNA (Valente *et al.*, 2017; Collins e Azqueta *et al.*, 2012). Especificamente, o bioensaio com *Allium cepa* que utiliza anormalidades cromossômicas como bioindicador para analisar efeitos tóxicos, citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos de compostos químicos (Parvan *et al.*, 2020). Considerando que a ativação promutagênica em plantas é um fenômeno particularmente relevante para a segurança alimentar, considerando a exposição humana (Grippa *et al.*, 2010).

Desse modo, os resultados obtidos são essenciais para comprovar a segurança da utilidade do biossurfactante produzido pela *C. glabrata* UCP 1002 para aplicação em

remediação ambiental, tendo em vista, não foram observados danos genotóxicos. A biocompatibilidade desse biossurfactate é fundamental para garantir a eficácia e a sustentabilidade no tratamento biotecnológico. Considerando que algumas espécies do gênero *Candida* são estudadas e consideradas como interesse científico para a produção de biossurfactante, apesar de que suas espécies são reconhecidas como patógenos oportunistas e, portanto, não detêm o status GRAS (*Generally Regarded as Safe*) (Carneiro *et al.*, 2019). Especificamente a espécie *C. glabrata*, muito implementada na sítetização de biossurfactante, porem em alguns relatos a levedura é considerada como um patógeno oportunista e resistente (Tam *et al.*, 2015).

Pradhan *et al.* (2018), utilizou esse mesmo método em um estudo onde examinou o perfil de um lipopeptídeo produzido por *Bacillus tequilensis*, no qual reduziu a toxicidade de metais pesados e atenuou seus efeitos prejudiciais nas células radiculares de *Allium cepa*. O mesmo método foi utilizado por Lustosa *et al.* (2023), para avaliação os possíveis efeitos tóxicos, citotóxicos e genotóxicos do inseticida ciromazina utilizando o bioensaio com *Allium cepa*. Algumas pesquisas buscam comprovar a não toxicidade de biossurcatantes, apresentando resultados promissores. Como por exemplo, Lima *et al.* (2024) investigaram um biossurfactante produzido por *C. lipolytica* UCP 0988, pelo teste de toxicidade de larvas de *Artemia salina* expostas as diferentes concentrações do biossurfactante (CMC: 0,5 g/L; $\frac{1}{2}$ CMC: 0,25 g/L; 2 x CMC: 1,0 g/L) por 24 h, obteve uma sobrevivência desses microcustacios de 100%, demonstrando a ausência de toxicidade nas condições testadas. Já Maciel *et al.* (2024) avaliaram o extrato bruto do biossurfactante produzido por *Curvularia lutana* através do método de fitotoxicidade utilizando sementes de pepino caipira (*Cucumis sativus*), análise evidenciou um índice de germinação de 90,8%, considerando ausência de toxicidade.

3.6 Caracterização físico-química do solo arenoso

Nascimento *et al.* (2025), realizou testes de caracterização físico-química no solo arenoso, como de avaliação de acidez, condutividade elétrica, pH, teores de sódio, potássio, cálcio, magnésio, alumínio e hidrogênio, e área superficial específica, bem como a sua capacidade de troca catiônica, grau de saturação por alumínio e saturação por óxidos. Os resultados obtidos pelo autor sobre os ensaios de granulométricos e compactados do solo arenoso podem ser observados na tabela 4.

Tabela 4: Granulometria, consistência, compactação e classificação unificada do solo arenoso natural testados.

Parametros	Solo
	Arenoso
Granulometria (%)	
Areia	88
Silte	3
Argila	9
Limite de Plasticidade % (LP) < 2 µm	8
Consistência	
Limite de Liquidez (LL) (%)	NL
Índice de Plasticidade (IP) (%)	NL
Ia ^a	—
Compactação	
Umidade ótima (%)	8.70
$\mu dmax^b$ (KN/ m ³)	18.20
Classificação Unificada	SP-SM

Esse resultado demonstra que o solo arenoso (classificado como SP-SM) não apresentou limites de liquidez nem plasticidade. Diante disso, o autor demonstrou que o solo arenoso por possuir grãos maiores conseguiu ser mais compactado com pouca água. Já na tabela 5 lista os teores dos produtos químicos detectados no solo arenoso natural estudado pelo autor.

Tabela 5: Caracterização química do solo arenoso natural testado.

	Solo
Determinação	Arenoso
pH em água	6,08
Carbono orgânico (g/kg)	1,07
Matéria orgânica (g/kg)	1,85
Hidrogênio extraível (H ⁺) (cmolc/kg)	7,70
Alumínio extraível (Al ³⁺) (cmolc/kg)	0,40

Valor S (soma de cátions) (cmolc/kg)	4,93
Valor T (capacidade de troca catiônica) (cmolc/kg)	13,03
Valor V (saturação por bases) (%)	37,83
% Fe ₂ O ₃ em ext. sulfúrico (g/kg)	0,50
% SiO ₂ em terra fina (g/kg)	71,20
% Al ₂ O ₃ em ext. sulfúrico (g/kg)	1,50
% Água no extrato de saturação	39,5
Condutividade do extrato de saturação (μS/cm a 25°C)	10
Área superficial específica (m ² /g)	18,4

De acordo com que foi analisado pelo autor, o solo arenoso é um sistema dinâmico e não possui pH estável como ocorre nas soluções aquosas. Portanto o solo estudado apresenta pH ácido. Outro fato observado pelo autor é que o solo apresenta uma capacidade de troca catiônica (valor T) baixa (<27 cmolc/kg). Os dados de área superficial específica confirmam a presença de caulinita (mineral de estrutura lamelar), que aumenta a interação com água e cátions, sendo assim o solo arenoso se trata de um solo distrófico (baixa fertilidade natural).

3.6 Processos de remoção do composto oleoso do solo arenoso

Os solos podem atuar como uma espécie de reservatório de poluentes hidrofóbicos oriundos das indústrias petrolíferas e de gás. Esse tipo de contaminação geralmente ocorre de eventos como os de vazamentos em tanques de armazenamento, rupturas de dutos ou de derramamentos acidentais durante as fases de exploração, refino e transporte do petróleo. Tais compostos destacam-se não apenas pela toxicidade, mas pela sua baixa solubilidade e caráter recalcitrantes (Faccioli *et al.*, 2022).

Segundo Selva Filho *et al.* (2023), alguns métodos físicos, mecânicos, químicos e biológicos para o processo de remediação podem ser empregados no solo. Sobre tudo o método biológico, no qual envolve o uso de recursos renováveis (plantas, microrganismos e surfactantes) e de baixa tecnologia. Tendo em vista, que os métodos convencionais, apresentam limitações significativas frente às técnicas biológicas. A biorremediação por sua vez, apresenta-se como uma opção vantajosa, por ser mais

econômica, eficiente e de menor impacto ambiental, capaz de mineralizar poluentes ou biodegradá-los em subprodutos menos perigosos (Silvia *et al.*, 2024).

Diante disso, o biossurfactante produzido pela *C. glabrata* obteve potencial de remoção do contaminante para o teste estático em todas as condições do biossurfactante bruto e isolado (tabela 3). O teste de remoção apresentou uma variação entre 53,4%, 43,5%, 47,5%, 53,3% para CMC, ½ CMC, 2 x CMC e líquido metabólico, observando que a concentração de CMC e líquido metabólico alcançaram uma taxa de remoção semelhante ao do SDS (surfactante químico).

Tabela 6: Remoção de hidrocarboneto presente no solo arenoso pelo teste estático.

Soluções	Óleo Removido (%)
Líquido Metabólico	53.3 ± 0.05
Biossurfactante Concentração CMC	53.4% ± 0.05
Biossurfactante Concentração ½ CMC	43.5 ± 0.05
Biossurfactante Concentração 2 X CMC	47.5 ± 0.05
SDS (Dodecil Sulfato de Sódio)	54.1 ± 0.05

O teste de remoção de contaminante dinâmico, foi avaliado após um período de 24 h em agitação orbital, onde foi observado que o biossurfactante produzido pela *C. glabrata* apresentou uma alta taxa de remoção para todas as concentrações do biossurfactante, incluindo o líquido metabólico. As amostras apresentaram uma variação na taxa de remoção entre 98,7%, 99,8%, 99,5%, 99,5% para CMC, ½ CMC, 2x CMC e o líquido metabólico. Todas as amostras possuíram valores semelhantes ou maiores do que a taxa de remoção do SDS (surfactante sintético).

Tabela 7: Remoção de hidrocarboneto presente no solo arenoso pelo teste dinâmico.

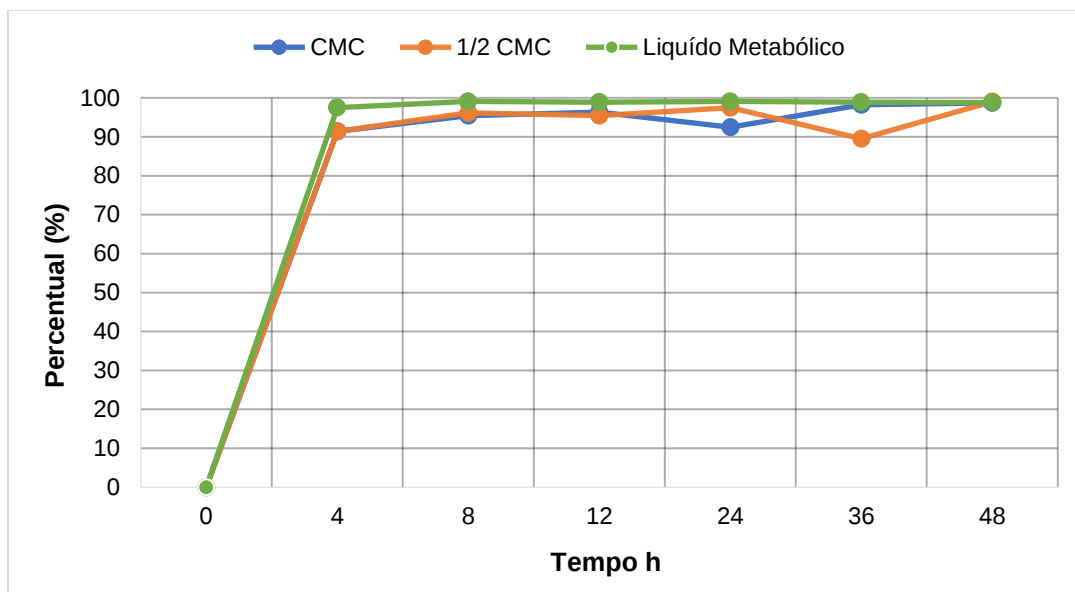
Soluções	Óleo Removido (%)
Líquido Metabólico	99.5 ± 0.9
Biossurfactante Concentração CMC	98.7 ± 0.9
Biossurfactante Concentração ½ CMC	99.8 ± 0.9

Biossurfactante Concentração 2 X CMC	99.5 ± 0.9
SDS (Dodecil Sulfato de Sódio)	98.9 ± 0.9

A análise da eficiência do controle negativo (água destilada), para ambos os testes foi avaliada a partir dos resultados obtidos por Nascimento *et al.* (2025), onde o mesmo obteve resultado dessa amostra em um valor inferior a 10% de para o teste estático, já no teste dinâmico valor inferior a 50% de remoção do óleo de motor (pós uso) presente no solo arenoso.

Após a realização dos testes de remoção (estático e dinâmico), foram selecionadas as melhores condições de ambos os testes para uma avaliação de remoção dessas condições do biossurfactante em diferentes intervalos de tempo. O teste foi realizado ao longo de seis intervalos de tempo para observa as taxas de remoção. Conforme os resultados obtidos, o biossurfactante foi capaz de remover mais de 80% do contaminante em todos os tempos testados pela concentração de 0,2 g/L (CMC), atingindo o seu máximo com 98,7% no intervalo de tempo de 48 h, já concentração 0,1 g/L ($\frac{1}{2}$ CMC) atingiu o seu máximo com 99,0% no intervalo de tempo de 48h e o biossurfactante bruto (liquido metabólico) atingindo o máximo de 99,1% no intervalo de tempo de 24h. A figura 7 mostra que os resultados iniciais expõem um grande índice de remoção no primeiro horário, com percentual de remoção de 97,5% do liquido metabólico e 91,4% para as amostras de CMC e $\frac{1}{2}$ CM, sendo assim o biossurfactante bruto obtendo a o maior percentual nas primeiras horas, enquanto para os outros horários houve uma variação de valores, com uma taxa entre 89% a 99% para ambas as amostras final de 48 h.

Figura 7: Resultado de remoção do hidrocarboneto no solo arenoso em teste cinético com intervalo de tempo de até 48h.



Desse modo, observasse que o biossurfactante produzido pela *C. glabrata* obteve uma capacidade significativa de remoção ao óleo de motor (pós uso), sendo uma excelente alternativa de baixo custo para a biorremediação ambiental.

Algumas pesquisas corroboram com os resultados obtidos, como por exemplo, a eficiência do biossurfactante por *C. glabrata*, no qual apresentou capacidade de remoção do contaminante em todas as condições para teste estático, com uma variação de 92,1%, 97%, 95,7% e 97,8%, alcançando a taxa de remoção do surfactante químico (Silva *et al.* 2024), o mesmo foi demonstrado por Caldas *et al.* (2024), onde o seu biossurfactante por *C. tropicalis* URM 1150, apresentando capacidade de remoção em para todas as concentrações do biossurfactante (bruto e isolado), obtendo 90% e 92% para as concentrações de CMC 2 CMC.

De acordo com Silva *et al.* (2014), a presença de surfactantes no solo melhora a remediação de hidrocarbonetos, reduzindo a tensão superficial da fase aquosa e facilitando a interação dentre as células microbianas e o contaminante hidrofóbico. Esse processo aumenta a biodisponibilidade dos poluentes para os micro-organismos, otimizando assim sua biodegradação.

4. CONCLUSÃO

Com base nos resultados, a levedura *C. glabrata* UCP 1002 demonstrou potencial para produzir biossurfactante. Sendo demonstrado na condição de Ensaio 2, onde apresentou resultados mais precisos, mostrando que o biossurfactante produzido com meio mineral adicionando bagaço de malte (10 g/L) e óleo de algodão residual (100 g/L), resultou em uma molécula estável do tipo glicolípido. Diante disso, observa-se que mesmo o bagaço de malte não tenha apresentado um efeito principal significativo, não pode ser negligenciado devido a sua participação em uma interação significativa, no qual, demonstra que a influência do óleo de algodão residual sobre a resposta é considerada pelo nível do bagaço de malte presente no sistema. Diante disso, o biossurfactante obtido apresenta-se com um grande potencial para aplicações futuras em processo de controle da poluição ambiental causada por petroderivados. Além de ser uma opção mais sustentável, menos tóxica e mais econômica.

Reconhecimento

Os autores agradecem o apoio da Universidade Católica de Pernambuco, Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES)

5. REFERENCIAS

- Akbari S, Abdurahman NH, Yunus RM, Alara OR, Abayomi OO. Biosurfactants—a new frontier for social and environmental safety: a mini review. *Biotechnol Res Innov.* **2018**;2(1):81-90.
- Asgher M, Afzal M, Qamar SA, Khalid N. Optimization of biosurfactant production from chemically mutated strain of *Bacillus subtilis* using waste automobile oil as low-cost substrate. *Environ Sustain.* **2020**;3(4):405-13.
- Arantes GCA, Rodrigues JFA, Assunção EA, Silva CCF, Silva MV, Santos JG, et al. Utilização do bagaço de malte para preparação de bioplásticos: uma proposta de economia circular ao setor cervejeiro. *Quim Nova.* **2024**;47:e-20240023.
- Bastos GB, Santos-Filho NA, Sampaio FC, Nascimento AMA, Santos JR, Silva MV, et al. Exploring the biofilm inhibitory potential of *Candida* sp. UFSJ7A glycolipid on siliconized latex catheters. *Braz J Microbiol.* **2024**;55:2119-30.
- Bezerra KGO, Rufino RD, Luna JM, Sarubbo LA. Saponins and microbial biosurfactants: Potential raw materials for the formulation of cosmetics. *Biotechnol Prog.* **2018**;34(6):1482-93.

- Begum W, Saha B, Mandal U. A comprehensive review on production of bio-surfactants by bio-degradation of waste carbohydrate feedstocks: an approach towards sustainable development. *RSC Adv.* **2023**;13(36):25599-615.
- Cooper DG, Goldenberg BG. Surface-active agents from two *Bacillus* species. *Appl Environ Microbiol.* **1987**;53(2):224-9.
- Chaves FS, Freitas FF, Silva RO, Freitas-Silva MC, Santos LV, Lachance MA, et al. Biosurfactant production by Antarctic-derived yeasts in sugarcane straw hemicellulosic hydrolysate. *Biomass Convers Biorefin.* **2021**;13:1-8. DOI: 10.1007/s13399-021-01578-8.
- Collins AR, Azqueta A. DNA repair as a biomarker in human biomonitoring studies; further applications of the comet assay. *Mutat Res.* **2012**;736(1-2):122-9.
- Carneiro CVGC, Silva FCP, Almeida JRM, Santos LV, Almeida Felipe MG. Xylitol production: Identification and comparison of new producing yeasts. *Microorganisms.* **2019**;7(11):484.
- Caldas MCF, Silva IA, Silva RCF, Almeida FCG, Conrado ALB, Sarubbo LA. Biosurfactant Production using *Candida tropicalis* URM 1150 and its Application in the Bioremediation of Coast Environments Impacted by Oil Spills. *Front Biosci-Elite.* **2024**;16(4):33.
- Silva MCP, Santos VP, Nitschke M. Surfactin Production by *B. subtilis* Using Oil Lee Mix as Substrate. *Rev Virtual Quim.* **2023**:1-12.
- Datta D, Das S, Sarkar B, Maiti D, Dey S, Mandal V. Microbial biosurfactants: Multifarious applications in sustainable agriculture. *Microbiol Res.* **2024**;279:127551.
- El-Sheshtawy HS, Aiad I, Osman ME, Abo-ELnasr AA, Kobisy AS. Production of biosurfactants by *Bacillus licheniformis* and *Candida albicans* for application in microbial enhanced oil recovery. *Egypt J Pet.* **2016**;25(3):293-8.
- Faccioli YES, Santos VS, Borges WS, Amaral AC, Nitschke M. Application of a biosurfactant from *Pseudomonas cepacia* CCT 6659 in bioremediation and metallic corrosion inhibition processes. *J Biotechnol.* **2022**;351:109-21.
- Grippa GA, Moro LB, Pazin M, Dorta DJ, Marin-Morales MA. Estudo genotóxico do surfactante Tween 80 em *Allium cepa*. *Rev Bras Toxicol.* **2010**;23(1-2):11-6.
- Gaur VK, Regar RK, Dhiman N, Gautam K, Srivastava JK, Patnaik S, et al. Valorization of agro-industrial waste for rhamnolipid production, its role in crude oil solubilization and resensitizing bacterial pathogens. *Environ Technol Innov.* **2022**;25:102108.
- Lima RA, Souza KS, Nascimento AEA, Converti A, Campos-Takaki GM. Production and characterization of biosurfactant isolated from *Candida glabrata* using renewable substrates. *Afr J Microbiol Res.* **2017**;11(6):273-44.
- Lustosa EA, Silva RCF, Oliveira AFS, Lima-Filho JLM, Porto ALF. Toxicidade e genotoxicidade do inseticida ciromazina em bioensaio com *Allium cepa*. *Res Soc Dev.* **2023**;12(1):e10512139261.
- Lima BGA, Oliveira FFS, Santos BLP, Rufino RD, Luna JM, Sarubbo LA. Sustainable production of biosurfactant grown in medium with industrial waste and use for removal of oil from soil and seawater. *Surfaces.* **2024**;7(3):537-49.
- Lopes GF, Rosa JG. Comparação da eficiência do tratamento de óleo residual de fritura com hipoclorito de sódio e carvão ativado. *Res Soc Dev.* **2024**;13(4):e1613445462.
- Nascimento PP, Silva IA, Santos BLP, Luna JM, Rufino RD, Sarubbo LA. Potential of *Candida bombicola* URM 3718 Biosurfactant for Application in Removal of Motor Oil Adsorbed on Soils. *Surfaces.* **2025**;8(1).
- Massardi RM, Massini RMM, Silva DJ. Chemical characterization of brewer's spent grains and evaluation of its potential for obtaining value-added products. *J Eng Exact Sci.* **2020**;6(1).
- Marinho PSS, Silva RR, Luna JM. Biossurfactantes microbianos e aplicações ambientais: uma revisão narrativa. *Res Soc Dev.* **2022**;11(12). DOI: 10.33448/rsd-v11i12.34123.

- Maciel CCS, Souza AF, Santiago MF, Santos EO, Gusmão NB, Campos-Takaki GM. Caracterização de biossurfactante por *Curvularia lunata*-UFPEDA885 para descontaminação de solos por óleo automotivo. *Interfaces Cient - Saúde Ambient.* **2024**;9(3):7-23.
- Oliveira KW, Silva IA, Santos BLP, Rufino RD, Luna JM, Sarubbo LA. Eco-Friendly Biosurfactant: Tackling Oil Pollution in Terrestrial and Aquatic Ecosystems. *Fermentation.* **2025**;11(4):199.
- Rocha Junior RB, Meira HM, Almeida DG, Rufino RD, Luna JM, Santos VA, et al. Application of a low-cost biosurfactant in heavy metal remediation processes. *Biodegradation.* **2019**;30(4):215-33.
- Piquet ABM, Martelli MC. Bioadsorbentes producidos a partir de resíduos orgânicos para la eliminación de colorantes: una revisión. *Res Soc Dev.* **2022**;11(3).
- Parvan LG, Leite TG, Freitas TB, Pedrosa PAA, Calixto JS, Agostinho LA. Bioensaio com *Allium cepa* revela genotoxicidade de herbicida com flumioxazina. *Rev Pan-Amaz Saude.* **2020**;11:1-10.
- Petrie B, Barden R, Kasprzyk-Hordern B. A review on emerging contaminants in wastewaters and the environment: current knowledge, understudied areas and recommendations for future monitoring. *Water Res.* **2015**;72:3-27.
- Pradhan AK, Rath A, Pradhan N, Sukla LB, Panda D, Mishra BK. Cyclic lipopeptide biosurfactant from *Bacillus tequilensis* exhibits multifarious activity. *3 Biotech.* **2018**;8(6):261.
- Rufino RD, Luna JM, Marinho PHC, Farias CBB, Ferreira SRM, Sarubbo LA. Removal of petroleum derivative adsorbed to soil by biosurfactant Rufisan produced by *Candida lipolytica*. *J Pet Sci Eng.* **2013**;109:117-22.
- Selva Filho AAP, Silva IA, Santos BLP, Luna JM, Rufino RD, Sarubbo LA. Maximization of the Production of a Low-Cost Biosurfactant for Application in the Treatment of Soils Contaminated with Hydrocarbons. *Sustainability.* **2024**;16:7970.
- Selva Filho AA, Silva IA, Santos BLP, Luna JM, Rufino RD, Sarubbo LA. Biosurfactants as multifunctional remediation agents of environmental pollutants generated by the petroleum industry. *Energies.* **2023**;16(3).
- Silva RR, Silva IA, Santos BLP, Luna JM, Rufino RD, Sarubbo LA. Microbial Biosurfactant: *Candida bombicola* as a Potential Remediator of Environments Contaminated by Heavy Metals. *Microorganisms.* **2023**;11(2772).
- Santos EMS, Silva IA, Santos BLP, Luna JM, Rufino RD, Sarubbo LA. Enhanced oil removal by a non-toxic biosurfactant formulation. *Energies.* **2021**;14(467). DOI: 10.3390/en14020467.
- Silva RR, Silva IA, Santos BLP, Luna JM, Rufino RD, Sarubbo LA. Production, Characterization and Application of Biosurfactant for Cleaning Cotton Fabric and Removing Oil from Contaminated Sand. *Processes.* **2024**;12(1):2584. DOI: 10.3390/pr12112584.
- Santos BLP. Aproveitamento de Resíduos Agroindustriais para Produção de Biossurfactantes: Estudo Comparativo de Licores Hemicelulósicos de Espigas de Milho e Talos de Girassol. *Sustentabilidade.* **2023**;15:6341. DOI: 10.3390/su15086341.
- Silva YA, Silva IA, Santos BLP, Luna JM, Rufino RD, Sarubbo LA. Biossurfactantes: Uma alternativa sustentável no combate à resistência antimicrobiana. In: Pereira WF, organizador. *Sustentabilidade tecnologia e meio ambiente: Tópicos atuais em pesquisa.* Vol. 4. Guarujá (SP): Científica Digital; **2024**. p. 8-28. DOI: 10.37885/241218397.
- Silva RCF, Almeida DG, Rufino RD, Luna JM, Santos VA, Sarubbo LA. Applications of biosurfactants in the petroleum industry and the remediation of oil spills. *Int J Mol Sci.* **2014**;15(7):12523-42.

Silva IED, Silva IA, Santos BLP, Luna JM, Rufino RD, Sarubbo LA. Produção de biossurfactantes a partir de resíduos agroindustriais: Uma revisão. Eng Gest Inov. **2024**;7:9.

Silva, Y.A.; Ferreira H.S.; Albuquerque, A.PC.; Borba, G.H.A.; Sarubbo, L.A.; Luna, J.M. Biosurfactant from *Candida guilliermondii* UCP 1592 for cleaning and degreasing applications. Rev. Bra. Cien. Ambien. **2025**; 80:e2540.

Silva,

Varjani SJ, Upasani VN. Critical review on biosurfactant analysis, purification and characterization using rhamnolipid as a model biosurfactant. Bioresour Technol. **2017**;232:389-97. DOI: 10.1016/j.biortech.2017.02.047.

Valente D, Costa-Amaral IC, Carvalho LV, Santos MVC, Castro VS, Silva DR, et al. Utilização de biomarcadores de genotoxicidade e expressão gênica na avaliação de trabalhadores de postos de combustíveis expostos a vapores de gasolina. Rev Bras Saude Ocup. **2017**;42:e2s.

Tam P, Gee K, Piechocinski M, Macreadie I. *Candida glabrata*, friend and foe. J Fungi. **2015**;1(2):277-92.

Zhu F, Wang S, Liu Y, Wu M, Wang H. Removal characteristic of surfactants in typical industrial and domestic wastewater treatment plants in Northeast China. Ecotoxicol Environ Saf. **2018**;153:84-90.

CAPITULO IV

CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Os resíduos industriais óleo de fritura residual e bagaço de malte podem ser utilizados como matéria-prima na produção de produtos biotecnológicos de alto valor agregado.
- A levedura *C. glabrata* demonstra um grande potencial como produtora de um agente surfactante altamente eficaz tanto em termos de atividade tensoativa quanto emulsificante.
- O biossurfactante demonstrou capacidade emulsificante frente a condições extremas de temperatura, pH na presença de NaCl.
- O biossurfactante apresentou características de estrutura química glicolipídica e adquirindo um excelente rendimento da sua produção.
- O biossurfactante obteve um excelente resultado para análise de genotoxicidade, sendo não tóxico para as raízes das cebolas (*Allium cepa*).
- O biossurfactante produzido pela *Candida glabrata* bruto e isolado removeu significativamente compostos hidrofóbicos no solo arenoso sob condições dinâmicas e estáticas, mostrando potencial para aplicações industriais.

ANEXOS

Capítulo publicado no Congresso Nacional de biotecnologia, Ambiente, Saúde e Educação- 2024

PRODUÇÃO DE BIOSURFACTANTE POR *CANDIDA GLABRATA*

*Elannie S. C. Silva¹, João V. S. Chagas¹, Pollyana P. do Nascimento², Rayanne N. R. B. Simões³, Leonie A. Sarubbo^{4,5}, Raquel D. Rufino³,

¹Programa de Pós-graduação em Desenvolvimento de Processos Ambientais, Universidade Católica de Pernambuco, Rua do Príncipe, n. 526, Boa Vista, Recife, Pernambuco, Brasil

²Doutorado em Biotecnologia/Rede Nordeste de Biotecnologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife, Brasil

³Ciências Biológicas/Escola de Saúde e Ciências da Vida, Universidade Católica de Pernambuco, Rua do Príncipe, n. 526, Boa Vista, Recife, Pernambuco, Brasil.

⁴Instituto Avançado de Tecnologia e Informação/LATI, Rua Cotia, 31, Prado, Recife, Pernambuco, Brasil.

⁵Engenharia Ambiental/Escola de Tecnologia e Comunicação, Universidade Católica de Pernambuco, Rua do Príncipe, n. 526, Boa Vista, Recife, Pernambuco, Brasil.

*Endereço de e-mail do autor correspondente: elannie.saivina@gmail.com

RESUMO

Com o aumento da contaminação de substâncias tóxicas no meio ambiente, pesquisadores visam buscar alternativas que reduzam os custos e a preocupação para combater esses poluentes. Com isso a utilização de biossurfactantes microbianos tem crescido como agente tensoativo e/ou emulsificante, sendo capazes de remover petróleo e metais pesados do ambiente. Diante disso, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial biotecnológico da *Candida glabrata* para a produção de biossurfactante utilizando meios de baixo custo para remoção de óleo de motor. O biossurfactante foi produzido utilizando como substrato óleo de fritura residual e bagaço de malte. A tensão superficial e estabilidade do biossurfactante quando exposto a valores extremos de pH, salinidade e temperatura foram avaliadas. Os resultados demonstraram que o biossurfactante produzido, apresentou uma excelente redução da tensão superficial da água de 72 mN/m para 31,01 mN/m, além disso, apresentou estabilidade com valores de 60% a 92% de atividade de emulsificação. Diante do exposto, observa-se que a levedura *C. glabrata* apresenta um excelente potencial biotecnológico para aplicações futuras em processos de biorremediação ambiental.

Palavras-chave: Biossurfactante, Biorremediação, *Candida glabrata*.

Normas da Revista Microorganisms



microorganisms



Type of the Paper (Article, Review, Communication, etc.)

Title

Firstname Lastname ¹, Firstname Lastname ² and Firstname Lastname ^{2,*}

¹ Affiliation 1; e-mail@e-mail.com

² Affiliation 2; e-mail@e-mail.com

* Correspondence: e-mail@e-mail.com; Tel.: (optional); include country code; if there are multiple corresponding authors, add author initials)

Abstract

A single paragraph of about 200 words maximum. For research articles, abstracts should give a pertinent overview of the work. We strongly encourage authors to use the following style of structured abstracts, but without headings: (1) Background: Place the question addressed in a broad context and highlight the purpose of the study; (2) Methods: briefly describe the main methods or treatments applied; (3) Results: summarize the article's main findings; (4) Conclusions: indicate the main conclusions or interpretations. The abstract should be an objective representation of the article and it must not contain results that are not presented and substantiated in the main text and should not exaggerate the main conclusions.

Keywords: keyword 1; keyword 2; keyword 3 (List three to ten pertinent keywords specific to the article yet reasonably common within the subject discipline.)

0. How to Use This Template

The template details the sections that can be used in a manuscript. Note that each section has a corresponding style, which can be found in the "Styles" menu of Word. Sections that are not mandatory are listed as such. The section titles given are for articles. Review papers and other article types have a more flexible structure.

Remove this paragraph and start section numbering with 1. For any questions, please contact the editorial office of the journal or support@mdpi.com.

1. Introduction

The introduction should briefly place the study in a broad context and highlight why it is important. It should define the purpose of the work and its significance. The current state of the research field should be carefully reviewed and key publications cited. Please highlight controversial and diverging hypotheses when necessary. Finally, briefly mention the main aim of the work and highlight the principal conclusions. As far as possible, please keep the introduction comprehensible to scientists outside your particular field of research. References should be numbered in order of appearance and indicated by a numeral or numerals in square brackets—e.g., [1] or [2,3], or [4–6]. See the end of the document for further details on references.

Academic Editor: Firstname Lastname

Received: date

Revised: date

Accepted: date

Published: date

Citation: To be added by editorial staff during production.

Copyright: © 2025 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

2. Materials and Methods

The Materials and Methods should be described with sufficient details to allow others to replicate and build on the published results. Please note that the publication of your manuscript implicates that you must make all materials, data, computer code, and protocols associated with the publication available to readers. Please disclose at the submission stage any restrictions on the availability of materials or information. New methods and protocols should be described in detail while well-established methods can be briefly described and appropriately cited.

Research manuscripts reporting large datasets that are deposited in a publicly available database should specify where the data have been deposited and provide the relevant accession numbers. If the accession numbers have not yet been obtained at the time of submission, please state that they will be provided during review. They must be provided prior to publication.

Interventionary studies involving animals or humans, and other studies that require ethical approval, must list the authority that provided approval and the corresponding ethical approval code.

In this section, where applicable, authors are required to disclose details of how generative artificial intelligence (GenAI) has been used in this paper (e.g., to generate text, data, or graphics, or to assist in study design, data collection, analysis, or interpretation). The use of GenAI for superficial text editing (e.g., grammar, spelling, punctuation, and formatting) does not need to be declared.

3. Results

This section may be divided by subheadings. It should provide a concise and precise description of the experimental results, their interpretation, as well as the experimental conclusions that can be drawn.

3.1. Subsection

3.1.1. Subsubsection

Bulleted lists look like this:

- First bullet;
- Second bullet;
- Third bullet.

Numbered lists can be added as follows:

1. First item;
2. Second item;
3. Third item.

The text continues here.

3.2. Figures, Tables and Schemes

All figures and tables should be cited in the main text as Figure 1, Table 1, etc.



Figure 1. This is a figure. Schemes follow the same formatting.

Table 1. This is a table. Tables should be placed in the main text near to the first time they are cited.

Title 1	Title 2	Title 3
entry 1	data	data
entry 2	data	data ¹

¹ Tables may have a footer.

The text continues here (Figure 2 and Table 2).

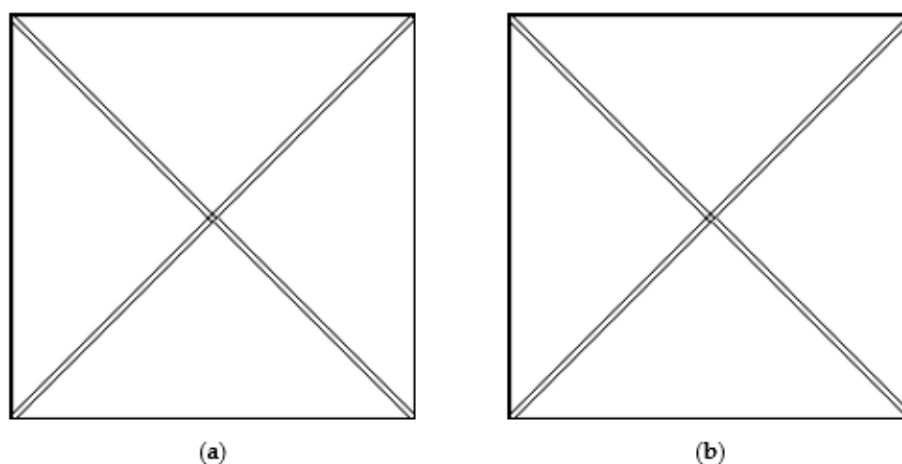


Figure 2. This is a figure. Schemes follow another format. If there are multiple panels, they should be listed as: (a) Description of what is contained in the first panel; (b) Description of what is contained in the second panel. Figures should be placed in the main text near to the first time they are cited.

Table 2. This is a table. Tables should be placed in the main text near to the first time they are cited. 86

Title 1	Title 2	Title 3	Title 4
entry 1 *	data	data	data
	data	data	data
	data	data	data
entry 2	data	data	data
	data	data	data
entry 3	data	data	data
	data	data	data
	data	data	data
entry 4	data	data	data
	data	data	data

* Tables may have a footer.

87

3.3. Formatting of Mathematical Components

88

This is example 1 of an equation:

89

$$a = 1, \quad (1)$$

the text following an equation need not be a new paragraph. Please punctuate equations as regular text.

90

91

This is example 2 of an equation:

92

$$a = b + c + d + e + f + g + h + i + j + k + l + m + n + o + p + q + r + s + t + u + v + w + x + y + z \quad (2)$$

the text following an equation need not be a new paragraph. Please punctuate equations as regular text.

93

94

Theorem-type environments (including propositions, lemmas, corollaries etc.) can be formatted as follows:

95

96

Theorem 1. *Example text of a theorem. Theorems, propositions, lemmas, etc. should be numbered sequentially (i.e., Proposition 2 follows Theorem 1). Examples or Remarks use the same formatting, but should be numbered separately, so a document may contain Theorem 1, Remark 1 and Example 1.*

97

98

99

The text continues here. Proofs must be formatted as follows:

100

Proof of Theorem 1. Text of the proof. Note that the phrase “of Theorem 1” is optional if it is clear which theorem is being referred to. Always finish a proof with the following symbol. □

101

102

103

The text continues here.

104

4. Discussion 105

Authors should discuss the results and how they can be interpreted from the perspective of previous studies and of the working hypotheses. The findings and their implications should be discussed in the broadest context possible. Future research directions may also be highlighted. 106
107
108
109

5. Conclusions 110

This section is not mandatory but can be added to the manuscript if the discussion is unusually long or complex. 111
112

6. Patents 113

This section is not mandatory but may be added if there are patents resulting from the work reported in this manuscript. 114
115

Supplementary Materials: The following supporting information can be downloaded at: 116
<https://www.mdpi.com/article/doi/s1>, Figure S1: title; Table S1: title; Video S1: title. 117

Author Contributions: For research articles with several authors, a short paragraph specifying their individual contributions must be provided. The following statements should be used “Conceptualization, X.X. and Y.Y.; methodology, X.X.; software, X.X.; validation, X.X., Y.Y. and Z.Z.; formal analysis, X.X.; investigation, X.X.; resources, X.X.; data curation, X.X.; writing—original draft preparation, X.X.; writing—review and editing, X.X.; visualization, X.X.; supervision, X.X.; project administration, X.X.; funding acquisition, Y.Y. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.” Please turn to the [CRediT taxonomy](#) for the term explanation. Authorship must be limited to those who have contributed substantially to the work reported. 118
119
120
121
122
123
124
125

Funding: Please add: “This research received no external funding” or “This research was funded by NAME OF FUNDER, grant number XXX” and “The APC was funded by XXX”. Check carefully that the details given are accurate and use the standard spelling of funding agency names at <https://search.crossref.org/funding>. Any errors may affect your future funding. 126
127
128
129

Institutional Review Board Statement: In this section, please add the Institutional Review Board Statement and approval number for studies involving humans or animals. You might choose to exclude this statement if the study did not require ethical approval. Please note that the Editorial Office might ask you for further information. Please add “The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki, and approved by the Institutional Review Board (or Ethics Committee) of NAME OF INSTITUTE (protocol code XXX and date of approval).” for studies involving humans. OR “The animal study protocol was approved by the Institutional Review Board (or Ethics Committee) of NAME OF INSTITUTE (protocol code XXX and date of approval).” for studies involving animals. OR “Ethical review and approval were waived for this study due to REASON (please provide a detailed justification).” OR “Not applicable” for studies not involving humans or animals. 130
131
132
133
134
135
136
137
138
139
140

Informed Consent Statement: Any research article describing a study involving humans should contain this statement. Please add “Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.” OR “Not applicable.” for studies that did not involve humans. You might also choose to exclude this statement if the study did not involve humans.

Written informed consent for publication must be obtained from identifiable human participants. For studies involving client-owned animals written informed consent must be obtained from the owner of the animals (or an authorized agent for the owner).

Data Availability Statement: We encourage all authors of articles published in MDPI journals to share their research data. In this section, please provide details regarding where data supporting reported results can be found, including links to publicly archived datasets analyzed or generated during the study. Where no new data were created, or where data is unavailable due to privacy or ethical restrictions, a statement is still required. Suggested Data Availability Statements are available in section “MDPI Research Data Policies” at <https://www.mdpi.com/ethics>.

Acknowledgments: In this section, you can acknowledge any support given which is not covered by the author contribution or funding sections. This may include administrative and technical support, or donations in kind (e.g., materials used for experiments). Where GenAI has been used for purposes such as generating text, data, or graphics, or for study design, data collection, analysis, or interpretation of data, please add “During the preparation of this manuscript/study, the author(s) used [tool name, version information] for the purposes of [description of use]. The authors have reviewed and edited the output and take full responsibility for the content of this publication.”

Conflicts of Interest: Declare conflicts of interest or state “The authors declare no conflicts of interest.” Authors must identify and declare any personal circumstances or interest that may be perceived as inappropriately influencing the representation or interpretation of reported research results. Any role of the funders in the design of the study; in the collection, analyses or interpretation of data; in the writing of the manuscript; or in the decision to publish the results must be declared in this section. If there is no role, please state “The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript; or in the decision to publish the results”.

Abbreviations

The following abbreviations are used in this manuscript:

MDPI	Multidisciplinary Digital Publishing Institute
DOAJ	Directory of open access journals

TLA Three letter acronym
LD Linear dichroism

Appendix A 171

Appendix A.1 172

The appendix is an optional section that can contain details and data supplemental to the main text—for example, explanations of experimental details that would disrupt the flow of the main text but nonetheless remain crucial to understanding and reproducing the research shown; figures of replicates for experiments of which representative data is shown in the main text can be added here if brief, or as Supplementary data. Mathematical proofs of results not central to the paper can be added as an appendix. 178

Table A1. This is a table caption. 179

Title 1	Title 2	Title 3
entry 1	data	data
entry 2	data	data

Appendix B 180

All appendix sections must be cited in the main text. In the appendices, Figures, Tables, etc. should be labeled starting with “A”—e.g., Figure A1, Figure A2, etc. 182

References 183

References must be numbered in order of appearance in the text (including citations in tables and legends) and listed individually at the end of the manuscript. We recommend preparing the references with a bibliography software package, such as EndNote, ReferenceManager or Zotero to avoid typing mistakes and duplicated references. Include the digital object identifier (DOI) for all references where available. 187

Citations and references in the Supplementary Materials are permitted provided that they also appear in the reference list here. 189

In the text, reference numbers should be placed in square brackets [] and placed before the punctuation; for example [1], [1–3] or [1,3]. For embedded citations in the text with pagination, use both parentheses and brackets to indicate the reference number and page numbers; for example [5] (p. 10), or [6] (pp. 101–105). 193

1. Author 1, A.B.; Author 2, C.D. Title of the article. *Abbreviated Journal Name* **Year**, *Volume*, page range. 195
2. Author 1, A.; Author 2, B. Title of the chapter. In *Book Title*, 2nd ed.; Editor 1, A., Editor 2, B., Eds.; Publisher: Publisher Location, Country, 2007; Volume 3, pp. 154–196. 196
3. Author 1, A.; Author 2, B. *Book Title*, 3rd ed.; Publisher: Publisher Location, Country, 2008; pp. 154–196. 198
4. Author 1, A.B.; Author 2, C. Title of Unpublished Work. *Abbreviated Journal Name* year, phrase indicating stage of publication (submitted; accepted; in press). 199
5. Author 1, A.B. (University, City, State, Country); Author 2, C. (Institute, City, State, Country). Personal communication, 2012. 201
6. Author 1, A.B.; Author 2, C.D.; Author 3, E.F. Title of Presentation. In Proceedings of the Name of the Conference, Location of Conference, Country, Date of Conference (Day Month Year). 202
7. Author 1, A.B. Title of Thesis. Level of Thesis, Degree-Granting University, Location of University, Date of Completion. 204
8. Title of Site. Available online: URL (accessed on Day Month Year). 205

Disclaimer/Publisher’s Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content. 208