



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL
CURSO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL**

AURÉLIA LUNGUINHO FIGUEIREDO

**ANÁLISE COMPARATIVA DA PRODUÇÃO DE
BIOSURFACTANTES UTILIZANDO *Serratia marcescens*
UCP 1549**

**CAMPINA GRANDE – PB
2016**

AURÉLIA LUNGUINHO FIGUEIREDO

**ANÁLISE COMPARATIVA DE PRODUÇÃO DE
BIOSURFACTANTE UTILIZANDO *Serratia marcescens*
UCP 1549**

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado a Coordenação do Curso de Engenharia Sanitária e Ambiental da Universidade Estadual da Paraíba como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia Sanitária e Ambiental.

Orientadora: Profa. Dra. Hέλvia Walewska Casullo de Araújo

**CAMPINA GRANDE – PB
2016**

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação.

F475a Figueiredo, Aurélia Linguinho.
Análise comparativa da produção de biossurfactantes
utilizando *Serratia marcescens* UCP 1549 [manuscrito] / Aurélia
Linguinho Figueiredo. - 2016.
45 p. : il. color.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia
Sanitária e Ambiental) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro
de Ciências e Tecnologia, 2016.

"Orientação: Profa. Dra. Hέλvia Walewska Casullo de Araújo,
Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental".

1. Biossurfactantes. 2. *Serratia marcescens*. 3. Resíduos
agroindustriais. I. Título.

21. ed. CDD 579.3

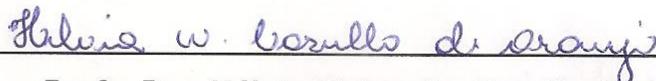
AURÉLIA LUNGUINHO FIGUEIREDO

**ANÁLISE COMPARATIVA DE PRODUÇÃO DE
BIOSSURFACTANTE UTILIZANDO *Serratia marcescens*
UCP 1549**

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado a Coordenação do Curso de Engenharia Sanitária e Ambiental da Universidade Estadual da Paraíba como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia Sanitária e Ambiental.

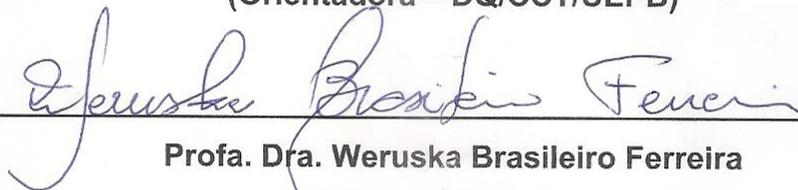
Aprovado em: 25/05/2016

Examinadores:



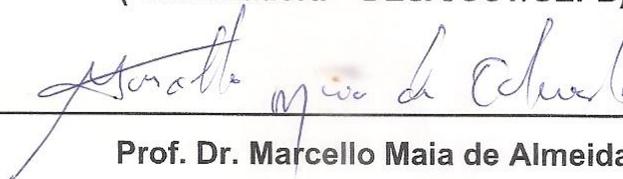
Profa. Dra. Hέλvia Walewska Casullo de Araújo

(Orientadora – DQ/CCT/UEPB)



Profa. Dra. Weruska Brasileiro Ferreira

(Examinadora – DESA/CCT/UEPB)



Prof. Dr. Marcello Maia de Almeida

(Examinador – DESA/CCT/UEPB)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, o centro e o fundamento de tudo em minha vida, por renovar a cada momento a minha força e disposição para nunca desistir dos meus sonhos, pelo discernimento concedido ao longo dessa jornada.

A minha mãe, Lúcia de Fátima, que de forma especial e carinhosa me deu força e coragem, me apoiou nos momentos de dificuldades, sempre me compreendendo e com conselhos. Obrigado por contribuir com tantos ensinamentos, tanto conhecimento, tantas palavras de força e ajuda. Obrigada por todo o amor e dedicação, sem a senhora não teria chegado aqui.

Quero agradecer também as minhas irmãs, Albanisa, Aneliése e Amanda, e meus cunhados, Rômulo e Leonardo, por toda a ajuda, compreensão, companheirismo e amor, sem vocês não sou nada.

À minha orientadora, prof. Dra. Hέλvia Casullo, que acreditou em mim; que ouviu pacientemente as minhas considerações partilhando comigo as suas idéias, conhecimento e experiências. Quero expressar o meu reconhecimento e admiração pela sua competência profissional e minha gratidão pela sua amizade.

Aos professores Marcelo Maia e Weruska Brasileiro, por participar de minha banca examinadora e pela disponibilidade em auxiliar a todos os alunos em suas dificuldades.

Aos docentes do curso de Engenharia Sanitária e Ambiental, pela convivência harmoniosa, pelas trocas de conhecimento e experiências que foram tão importantes na minha vida acadêmica/pessoal. E contribuíram para o meu novo olhar profissional.

A todos os meus colegas de curso, em especial Andrezza, Joseilda, Yasmin, Matheus, Alberto e Ítalo, por todo o companheirismo, amizades, ajuda e conselhos, por todos os momentos de alegrias e tristezas. Peço a Deus que os abençoe grandemente, preenchendo seus caminhos com muita paz, amor, saúde e prosperidade.

Enfim, obrigada a todos que contribuíram diretamente ou indiretamente com essa etapa importante da minha vida.

ANÁLISE COMPARATIVA DE PRODUÇÃO DE BIOSURFACTANTE UTILIZANDO *Serratia marcescens* UCP 1549

RESUMO

Os biossurfactantes são moléculas anfipáticas, com uma porção hidrofóbica e outra porção hidrofílica, produzidos a partir de diversos microrganismos como as bactérias, leveduras e fungos, possuem uma capacidade de reduzir a tensão superficial e interfacial entre gases, líquidos e sólidos, além de possuir alto poder de emulsificação, são utilizados em diversos setores, como na indústria farmacêutica, na biorremediação, e principalmente na indústria petrolífera, apresentam vantagens sobre os surfactantes químicos, por serem biodegradáveis, terem baixa toxicidade, produção a partir de fontes renováveis e de baixo custo. Neste trabalho realizou-se uma análise comparativa da produção de biossurfactantes por *Serratia marcescens* UCP 1549 utilizando como substrato os resíduos agroindustriais, com o objetivo de minimizar o custo da produção de biossurfactantes, como também observar o comportamento da tensão superficial e do índice de emulsificação. Foram realizados dois experimentos utilizando resíduos agroindustriais como meio de baixo custo, de acordo com planejamentos experimentais, onde o experimento I teve um planejamento experimental 2², contendo manipueira e vinhaça e o experimento II um planejamento experimental 2³ na qual continha borra de café, bagaço de cana-de-açúcar e óleo pós-fritura. Estes foram incubados por 72 horas, 28°C e 155 rpm. Os melhores resultados para índice de emulsificação e tensão superficial, no experimento I foi de 94,29% na condição 5 (3% de vinhaça e 27,05% de manipueira) e 27,49 mN/m na condição 4 (4% de vinhaça e 25% de manipueira), respectivamente. Já no experimento II o resultado mais significativo foi de 66,70% para índice de emulsificação e 36,35 mN/m para tensão superficial ambos na condição 5 (2% de bagaço de cana-de-açúcar, 15% de borra de café e 15% de óleo pós-fritura). Os resultados mais representativos foram apresentados no experimento I para a produção de biossurfactantes, na qual houve uma maior redução na tensão superficial e uma maior formação de emulsões, o experimento II precisa passar por uma otimização no seu planejamento experimental. Diante dos resultados obtidos, conclui-se que a bactéria *Serratia marcescens* UCP 1549 tem potencial para a produção de biossurfactantes utilizando como substrato os resíduos agroindustriais.

PALAVRAS-CHAVE: Biossurfactantes, *Serratia marcescens*, resíduos agroindustriais.

ANALYSIS BIOSURFACTANT PRODUCTION COMPARISON USING *Serratia marcescens* UCP 1549

ABSTRACT

The biosurfactants are amphipathic molecules with a hydrophobic moiety and one hydrophilic moiety, produced from various microorganisms like bacteria, yeasts and fungi have an ability to lower the surface and interfacial tension between gases, liquids and solids, in addition to having high power emulsification, are used in various industries such as the pharmaceutical industry, bioremediation, and especially in the oil industry, have advantages over chemical surfactants, being biodegradable, have low toxicity, production from renewable sources and low cost. In this work a comparative analysis of biosurfactants production by *Serratia marcescens* UCP 1549 using as substrate the agro-industrial waste, in order to minimize the cost of biosurfactants production, but also to observe the behavior of the surface tension and emulsification index. Two experiments were conducted using agroindustrial waste as a means of low cost, according to experimental design, where the experiment I had an experimental design 2² containing cassava and vinasse and experiment II experimental design 2³ in which contained coffee grounds, crushed sugarcane and post-frying oil. These were incubated for 72 hours, 28 ° C and 155 rpm. The best results for emulsification index and surface tension, the experiment I was 94.29% in Condition 5 (3% of vinasse and 27.05% of cassava) and 27.49 mN/m in condition 4 (4% vinasse and 25% cassava), respectively. In experiment II the most significant result was 66.70% for index emulsification and 36.35 mN/m surface tension for both the condition 5 (2% sugarcane bagasse, 15% of coffee grounds and 15% post-frying oil). The most significant results were presented at the first trial for the production of biosurfactants, in which there was a greater reduction in surface tension and increased formation of emulsions, the experiment II must undergo an optimization in your experimental design. Based on these results, it is concluded that *Serratia marcescens* UCP 1549 has the potential for biosurfactant production using as substrate the agroindustrial waste.

KEYWORDS: Biosurfactants, *Serratia marcescens*, agroindustrial wastes.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	08
2 OBJETIVOS	10
2.1 OBJETIVO GERAL	10
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	10
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	11
3.1 SURFACTANTES	11
3.2 BIOSSURFACTANTES	13
3.2.1 Classificação	13
3.2.1.1 <i>Serratia marcescens</i>	15
3.2.2 Propriedades e aplicações	16
3.3 UTILIZAÇÕES DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS COMO SUBSTRATO PARA A PRODUÇÃO DO BIOSSURFACTANTE	18
3.3.1 Manipueira	18
3.3.2 Vinhaça	19
3.3.3 Bagaço de cana-de-açúcar	20
3.3.4 Borra de café	20
3.3.5 Óleo pós-fritura	21
4 METODOLOGIA	23
4.1 MATERIAIS	23
4.1.1 Micro-organismo	23
4.1.2 Meio de cultura e condições de cultivos	23
4.1.3 Substrato	23
4.1.4 Produção do biossurfactante	24
4.2 MÉTODOS ANALÍTICOS	24
4.2.1 Índice de emulsificação	24
4.2.2 Tensão Superficial	24
4.3 MÉTODOS ESTATÍSTICOS	25
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	26
5.1 EXPERIMENTO I: MANIPUEIRA E VINHAÇA.....	26
5.2 EXPERIMENTO II: BORRA DE CAFÉ, BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR E ÓLEO PÓS-FRITURA	29
5.3 COMPARAÇÕES ENTRE OS EXPERIMENTOS I E II	32

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	34
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	35

1 INTRODUÇÃO

A partir a Revolução Industrial que aconteceu nos séculos de XVIII e XIX, a maioria da população deixou a vida no campo e o trabalho artesanal para ir trabalhar na cidade recebendo um salário e utilizando máquinas. Com a evolução das tecnologias industriais a sociedade melhorou sua qualidade de vida, pois a indústria trouxe equipamentos para facilitar o transporte, a alimentação, as moradias, a comunicação, entre outros benefícios.

No entanto, o desenvolvimento industrial ocasionou uma degradação ambiental desenfreada, e um dos principais problemas enfrentados são seus resíduos, pois possuem uma variedade de substâncias tóxicas e perigosas para o meio ambiente. A indústria petrolífera é uma das principais causadoras de poluição ambiental, com os constantes acidentes ambientais envolvendo derramamentos de petróleo e seus derivados, resultando em danos a saúde de diversos seres vivos e na redução da disponibilidade dos recursos naturais. Diante disto e pensando em remediar essa degradação ambiental, se fez necessária a busca por métodos para solucionar tais problemas.

A aplicação de surfactantes químicos é um dos métodos usados para remediar o derramamento de petróleo. Eles são compostos químicos constituídos por moléculas anfipáticas contendo porções hidrofílicas e hidrofóbicas que se particionam, preferencialmente, nas interfaces entre fases fluidas com diferentes graus de polaridade e pontes de hidrogênio, e assim reduzindo a tensão superficial e interfacial e a formação de microemulsões onde os hidrocarbonetos possam se solubilizar em água ou vice-versa (CALVO et al., 2008). Entretanto os surfactantes químicos trazem alguns danos ao meio ambiente, como sua alta toxicidade e não biodegradabilidade.

Devido essa preocupação ambiental, está havendo uma ascensão na produção de biosurfactantes, aos quais possuem as mesmas características que surfactantes químicos, porém com algumas vantagens, como biodegradabilidade, baixa toxicidade, aceitabilidade ecológica e habilidade de serem produzidas a partir de substratos alternativos, como os resíduos agroindustriais. O uso de substratos renováveis em processos biotecnológicos é apontado como uma alternativa para a viabilização econômica, pois a matéria-prima é parte significativa quando considerados os custos de produção. Estima-se que o valor da matéria-prima em

processos biotecnológicos represente de 10 a 30% do custo de produção (LUMA et al.,2009).

Os biossurfactantes são subprodutos metabólicos de bactérias, fungos filamentosos e leveduras (REDDY, 1995). Assim sendo, neste estudo, foi investigada a produção de biossurfactantes utilizando a bactéria *Serratia marcescens* UCP 1549 e também fazer uma análise comparativa utilizando resíduos agroindustriais como substratos alternativos de baixo custo na produção de biossurfactantes em dois experimentos diferente. O experimento I foi utilizado um planejamento experimental 2², com substrato de vinhaça e manipueira e o experimento II com planejamento experimental 2³, utilizando com substrato a borra de café, bagaço de cana-de-açúcar e óleo pós-fritura.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Realizar uma análise comparativa da produção de biossurfactantes por *Serratia marcescens* UCP 1549 utilizando resíduos agroindustriais como substrato alternativo de baixo custo.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

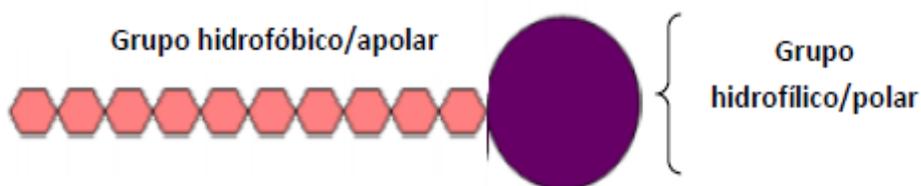
- Avaliar o potencial da *Serratia marcescens* UCP 1549 de produzir biossurfactante utilizando resíduos agroindustriais (bagaço de cana-de-açúcar, borra de café, vinhaça, manipueira e óleo pós-fritura);
- Analisar a melhor condição no experimento I utilizando o planejamento experimental 2^2 utilizando manipueira e vinhaça de acordo com a tensão superficial e índice de emulsificação;
- Analisar a melhor condição no experimento II utilizando o planejamento experimental 2^3 utilizando bagaço de cana-de-açúcar, borra de café e óleo pós-fritura de acordo com a tensão superficial e índice de emulsificação;
- Realizar um estudo comparativo entre as melhores condições dos experimentos I e II e uma análise do melhor substrato para a produção de biossurfactantes;

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 SURFACTANTES

Os surfactantes fazem parte de uma classe de compostos químicos amplamente utilizados em diversos setores industriais como têxteis, cosméticas, farmacêuticas, alimentícias, de papeis, polímeros e plásticos (KITAMOTO et al., 2002). Eles constituem um composto anfipático (Figura 1) contendo uma região hidrofílica (polar) e uma hidrofóbica (apolar) que se particionam, preferencialmente, na interface de fluidos (Figura 2) com diferentes graus de polaridade e pontes de hidrogênio (SILVA, 2012).

Figura 1: Estrutura química de um monômero de surfactante.



Fonte: ANDRADE, 2014

A porção hidrofílica pode ser iônica (catiônica ou aniônica), não iônica ou ainda anfótero (quando ambas as cargas estão presentes na molécula). A porção hidrofóbica é frequentemente formada por hidrocarbonetos de cadeia alifática, grupos aromáticos ou policíclicos (ACIOLY, 2009). A ligação hidrofóbica é a tendência das moléculas apolares se ligarem com outras moléculas apolares, sendo assim, um microrganismo pode aderir a substratos devido ao efeito hidrofóbico (SCHULTZ, 2010).

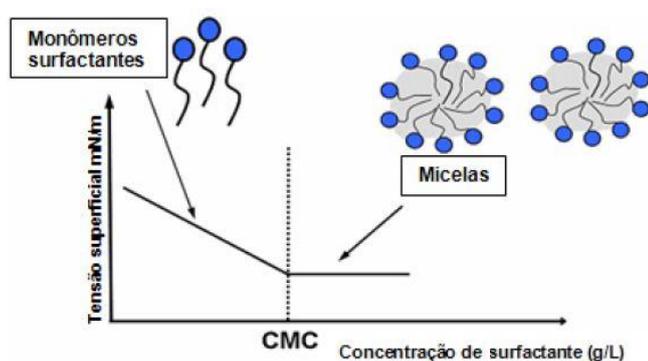
Figura 2: Esquema de adsorção das moléculas de surfactantes na interface: (a) maioria das cadeias hidrofóbicas é linear; (b) Presença de ramificação ou múltiplas cadeias hidrocarbônica.



Fonte: MYERS, 1999.

A eficácia dos surfactantes é determinada através da capacidade de reduzir a tensão superficial (força existente entre uma superfície ar-líquido), que segundo Mulligan (2004) é a medida de energia livre da superfície por unidade de área, necessária para trazer uma molécula do interior do líquido para a superfície. Já Pirollo (2006) descreve que, devido à presença de surfactantes, uma menor energia é requerida para trazer uma molécula até a superfície e a tensão superficial é reduzida. A adição de surfactante no sistema de água/ar ou óleo/água em concentrações crescentes observa-se a redução da tensão superficial até que este alcance o nível crítico, que é denominado de Concentração Micelar Crítica (CMC). O autor ainda em seu trabalho define que CMC como a solubilidade de um tensoativo na fase aquosa, ou seja, a concentração mínima de tensoativo necessária para atingir os valores mais baixos de tensão superficial e interfacial, a partir da qual as moléculas de surfactante se associam formando estruturas supramoleculares como micelas, bicamadas e vesículas. Bugay (2009) completa ainda que após este ponto, mesmo com o aumento da concentração de surfactante na solução, a tensão superficial permanece constante. A Figura 3 mostra a relação entre a tensão superficial e a concentração de surfactante no meio.

Figura 3: Formação das micelas.



Fonte: SILVA, 2012.

Com estas características os surfactantes são considerados um dos produtos químicos mais versáteis e utilizados nos diversos setores industriais (DESAI; BANAT, 1997). No entanto, são compostos tóxicos e não apresentam biodegradabilidade, tornando assim prejudiciais ao meio ambiente.

3.2 BIOSSURFACTANTES

A denominação de biossurfactantes é dada a um grupo estruturalmente diverso de subprodutos metabólicos de origem microbiana (ROSSMANN, 2008), como por exemplo, bactérias, leveduras e fungos filamentosos. São produzidos principalmente pelo crescimento aeróbio de microrganismos em meios aquosos a partir de carboidratos, hidrocarbonetos, óleos e gorduras ou uma mistura destes (PIROLLO, 2006). Apresentam as mesmas características que um surfactante químico, isto é, a redução da tensão superficial, interfacial e a alta capacidade emulsificante. Possuem uma estrutura comum, onde a porção hidrofílica pode ser composta de aminoácidos ou peptídeos, mono, di ou polissacarídeos, enquanto a porção hidrofóbica é constituída de uma cadeia de hidrocarbonetos de um ou mais ácidos graxos, saturados ou insaturados (DESAI; BANAT, 1997).

Os biossurfactantes são produzidos por processos fermentativos, que são mais brandos que os processos químicos tradicionalmente envolvidos na produção de surfactantes. Outras vantagens dos biossurfactantes em relação os surfactantes químicos são baixa toxicidade, biodegradabilidade, produzidos a partir de substratos renováveis, chega a uma menor tensão superficial com concentrações menores de surfactantes, são mais estáveis quanto às variações de temperatura, pH e salinidade (SALGADO, 2013; ROSSMANN, 2008). No entanto, os biossurfactantes não permitem uma competitividade com os surfactantes químicos, pois seu custo de produção ainda é alto. O sucesso do desenvolvimento industrial da produção de biossurfactantes depende do uso alternativo de substrato de baixo custo, tais como resíduos agroindustriais, tornando-se assim uma importante estratégia para reduzir os custos associados ao processo (SILVA, 2012).

3.2.1 Classificação

Os surfactantes químicos são classificados de acordo com a natureza de seu grupo polar, já os biossurfactantes são classificados bioquimicamente de acordo com a espécie microbiana produtora (SILVA, 2012), onde a maioria dos biossurfactantes são neutros ou aniônicos variando desde de pequenos ácidos graxos até grandes polímeros (NITSCHKE; PASTORE, 2002), como indicado na Tabela 1. Os principais grupos são os lipopeptídios e lipoproteínas, glicolipídios

(ramnolipídios, trealopídios e sorfolipídios), fosfolipídios, ácidos graxos neutros, materiais particulados e polímeros (SALGADO, 2013).

Tabela 1: Principais classes de biossurfactantes e microrganismos envolvidos

Tipo de Biossurfactante	Microrganismo
Glicolipídios	
- ramnolipídios	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
- soforolipídios	<i>Torulopsis bombicola, T. apicola</i>
- trehalolipídios	<i>Rhodococcus erythropolis, Mycobacterium sp.</i>
Lipopeptídios e lipoproteínas	
- Peptídio-lipídio	<i>Bacillus licheniformis</i>
- Viscosina	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
- Serrawetina	<i>Serratia marcescens</i>
- Sufactina	<i>Bacillus subtilis</i>
- Subtilisina	<i>Bacillus subtilis</i>
- Gramicidina	<i>Bacillus brevis</i>
- Polimixina	<i>Bacillus polymyxa</i>
Ácidos graxos, lipídios neutros e fosfolipídios	
- Ácidos graxos	<i>Corynebacterium lepus</i>
- Lipídios neutros	<i>Nocardia erythropolis</i>
- Fosfolipídios	<i>Thiobacillus thiooxidans</i>
Surfactantes poliméricos	
- emulsan	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
- biodispersan	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
- liposan	<i>Candida lipolytica</i>
- carboidrato-lipídio-proteína	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
- manana-lipídio-proteína	<i>Candida tropicalis</i>
Surfactantes particulados	
- vesículas	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
- células	Várias bactérias

Fonte: (DESAI; BANAT, 1997)

Lipopeptídios e Lipoproteínas englobam uma grande classe de biossurfactantes, os lipopeptídios cíclicos, resultantes da condensação entre ácidos graxos e um oligopeptídeo, apresentam uma ampla atividade antibiótica como, a surfactina, gramicidinas e polimixinas (MUTHUSAMY et al., 2008). Eles são produzidos por diferentes espécies do gênero *Bacillus* são particularmente

interessantes devido a sua alta eficiência como agentes tensioativos, alguns também apresentam atividade antimicrobiana. (LIMA, 2007).

3.2.1.1 *Serratia marcescens*

Serratia sp apresenta-se sob a forma de bacilo Gram-negativo classificado como um membro da família Enterobacteriaceae (HEJAZI, 1997), Este gênero de micro-organismos está amplamente distribuído na natureza, encontrando-se no solo, água, plantas e no trato intestinal de seres humanos e animais homeotérmicos (KIM et al., 2009). E distingue-se pela produção de três enzimas: DNase, lipase e gelatinase (ARAÚJO, 2009).

Araújo (2010) afirma que a *Serratia marcescens* é a bactéria mais importante desse gênero, ela é Gram-negativa em forma de bastonete, com diâmetro que varia de 0,9-2,0 μm de comprimento, anaeróbio facultativo, de crescimento quimioautotrófico e geralmente móvel devido ao flagelo peritriquo. A *Serratia marcescens* geralmente é associada a uma variedade de infecção humana, em particular, pneumonia e septicemia, em pacientes com câncer reticulo endotelial que recebem quimioterapia (SALGADO, 2013). A bactéria apresenta perfil de elevada resistência, capaz de sobreviver em condições inóspitas, na presença de alguns desinfetantes e antissépticos (AUCKEN; PITT, 1998; DOI et al., 2004; IGUCHI et al., 2014). Também se caracteriza pela capacidade que têm algumas espécies de produzir o pigmento prodigiosina, de cor vermelha característica (KHANAFARI et al., 2006; KALIVODA et al., 2010) (Figura 4).

Figura 4: Cultivo da bactéria *Serratia marcescens* UCP 1549 em ágar Luria Bertani (LB).



Fonte: RODRIGUEZ (2015)

Serratia marcescens produz, além da prodigiosina, varias substâncias, como a serrawettina, um biossurfactante que lhe confere propriedade de aderência no processo de colonização de superfícies (MONTANER et al., 2000; PÉREZ-TOMÁS et al., 2003; MATSUYAMA et al., 2011); enzimas como quitinases, lipases e cloroperoxidasas (BAKKIYARAJ et al., 2012); e lipídeos com potencial aplicação na produção de biodiesel (BHARTI et al., 2014).

3.2.2 Propriedades e aplicações

As numerosas vantagens dos biossurfactantes fazem com que suas aplicações sejam recomendadas, não somente na indústria alimentícia, cosmética e farmacêutica, mas também na proteção ambiental (KITAMOTO et al., 2002; KARANTH et al., 1999).

Na indústria alimentícia, os biossurfactantes possuem uma variedade de aplicações, devido a sua habilidade de formar emulsões estáveis, e um dos papéis importantes é na formação da consistência e textura, bem como na dispersão de fase e na solubilização de aromas (RAHMAN; GAKPE, 2008). Os biossurfactantes tem a função de promover a estabilidade da emulsão, o controle da aglomeração de glóbulos de gorduras em alimentos processados, tais como: creme de leite, manteiga, margarina, maionese, molhos para salada, entre outros (SILVA, 2012).

Já na indústria farmacêutica, os biossurfactantes são utilizados amplamente em produtos cosméticos e fármacos. Eles têm aplicações como agentes anti-adesivos e antimicrobianos, na formulação de produtos de limpeza e como agentes terapêuticos (COSTA, 2010; GUDIÑA et al., 2013), devido a sua compatibilidade com a pele. Alguns produtos que necessitam de surfactantes em seus ingredientes estão incluídos os repelentes de insetos, antiácidos, soluções para lentes de contato, desodorantes, produtos para unhas, pasta de dentes, dentre outros (MAYER; SOBERON-CHAVEZ, 2000).

Entretanto, o maior mercado de aplicação de biossurfactantes é a indústria petrolífera, onde são utilizados na produção de petróleo ou incorporados aos óleos lubrificantes (NITSCHKE; PASTORE, 2002). Outras aplicações de biossurfactantes inclui a limpeza de derramamento de óleos, a remoção de óleos de tanques de estocagem, a recuperação avançada de petróleo e a biorremediação de solos e aquáticos (GAUTAM; TYAGI, 2006; SINGH et al., 2007).

Outras aplicações do biossurfactantes incluem a mineração, agricultura, medicina, indústria de papel, têxtil, cerâmica. A Tabela 2 descreve aplicações industriais dos biossurfactantes.

Tabela 2: Aplicação industrial dos biossurfactantes

Indústria	Aplicação	Papel dos biossurfactantes
Petróleo	Recuperação avançada de óleos	Aumento da drenagem de óleo em poços perfurados; estimulação da liberação de óleo entranhado por forças capilares; redução da viscosidade de óleos; molhabilidade de superfícies sólidas; redução da tensão interfacial; solubilização de óleos.
	Desemulsificação	Desemulsificação de emulsões oleosas; sequestro de metais pesados; redução da tensão interfacial; agente de molhabilidade.
Ambiental	Biorremediação	Emulsificação de hidrocarbonetos; redução da tensão interfacial; sequestro de metais.
	Remediação de solos	Emulsificação através da aderência a hidrocarbonetos; dispersantes; agentes espumantes; detergentes.
Alimentos	Emulsificação e desemulsificação	Emulsificantes; estabilizantes; desemulsificantes; suspensão; solubilizantes; espumantes; inibidores de espumas; amaciantes; lubrificantes.
	Ingrediente funcional	Interação com lipídeos, proteínas e carboidratos.
Biológica	Microbiológica	Função fisiológica como mobilidade celular, acesso a nutrientes, competição célula-célula, patogênese em plantas e animais.
	Farmacêutica e Terapêutica	Antibacterianos; antifúngicos; agentes antivírus; vacinas; mecanismos de adesão.
Agricultura	Biocontrole	Facilitadores de mecanismos de biocontrole de micróbios como parasitismo e competição.
Bioprocessamento	"Downstream"	Biocatálise em sistemas bifásicos aquosos e em emulsões; biotransformações; recuperação de compostos intracelulares; aumento da produção de metabólitos fermentativos e enzimas extracelulares.
Cosmética	Produtos de beleza e saúde	Emulsificantes; solubilizantes; espumantes; agentes microbianos, mediadores de ação enzimática.

Fonte: MUTHUSAMY et al., 2008

3.3 UTILIZAÇÕES DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS COMO SUBSTRATO PARA A PRODUÇÃO DO BIOSURFACTANTE

Apesar dos biossurfactantes terem inúmeras vantagens em relação aos surfactantes químicos, a sua produção em larga escala ainda é limitada, devido ao seu alto custo de produção, associado à baixa produtividade e ao uso de substratos caros (CAMPOS-TAKAKI et al, 2010; CHEIRSILP et al., 2013; LUNA et al., 2013). O Brasil produz grande quantidade de resíduos agrícola e agroindustrial, porém apenas uma pequena porcentagem é reutilizada, devido ao desconhecimento do seu potencial nas diversas áreas, como por exemplo, a energética, agrícola, pecuária e até mesmo a alimentar.

Pensando nisso e na necessidade de preservação ambiental, esses resíduos vêm despertando grande interesse dos pesquisadores como alternativa para o fornecimento de substratos de baixo custo para a produção de biossurfactantes (GUSMÃO et al., 2010). A principal dificuldade na seleção desses substratos alternativos é encontrar a composição adequada que permita tanto o crescimento celular como o acúmulo do produto de interesse (ROSSMANN, 2008). Porém, os resíduos agroindustriais ou da indústria alimentícia vem suprimindo a necessidade para a biossíntese destas biomoléculas devido ao seu elevado valor de carboidratos ou lipídeos.

Os resíduos líquidos gerados pelas indústrias químicas e de alimentos apresentam grande complexidade física e química, o que dificulta seu tratamento, podendo causar riscos ao meio ambiente onde são descartados (CERQUEIRA; COSTA, 2009; LUNA et al., 2013). Diante disso, a reutilização desses resíduos traz benefícios para o meio ambiente, pois irá diminuir a quantidade de resíduos lançados no meio, e no custo de tratamento do mesmo, como também irá diminuir o valor da produção do biossurfactantes. Barros et al. (2007) avaliam ainda que a utilização de resíduos agroindustriais para a produção de biossurfactantes é um dos passos para viabilização e implantação desses processos em escala industrial.

3.3.1 Manipueira

A manipueira é o resíduo líquido proveniente da prensagem da raiz da mandioca, durante a fabricação da farinha. Tanto a mandioca quanto o resíduo

líquido contém ácido cianídrico, venenoso e nocivo à alimentação humana e animal (SALGADO, 2013). Segundo Andrade (2010), os resíduos líquidos merecem uma atenção especial devido ao seu efeito agressivo ao ambiente, devido ao seu teor de cianeto total tanto pela alta carga orgânica. O lançamento desse efluente num corpo aquático sem nenhum tratamento prévio, irá contamina-lo elevando a sua carga orgânica e seu nível de ácido cianídrico. Porém, esse efluente é um líquido precioso, podendo ser usado como adubo orgânico (ARAGÃO; PONTE, 1995), e ainda apontado como inseticida (PONTE, 1992) e fungicida (SANTOS; PONTE, 1993).

Além disso, segundo Bezerra (2012), ele passível de ser aproveitado para o cultivo de micro-organismos devido a sua composição, que consiste principalmente de carboidratos, nitrogênio e diversos sais minerais. A Tabela 3 apresenta a composição química da manipueira.

Tabela 3: Características físicas e químicas da manipueira.

Parâmetros	Teor
Sólidos sedimentáveis (mL L ⁻¹)	17,2
pH	4,08
Nitrogênio (mL L ⁻¹)	980
Fósforo (mL L ⁻¹)	740
Potássio (mL L ⁻¹)	1970
Sódio (mL L ⁻¹)	460
Cálcio (mL L ⁻¹)	240
Magnésio (mL L ⁻¹)	360
Zinco (mL L ⁻¹)	2,6
Cobre (mL L ⁻¹)	2,8
Manganês (mL L ⁻¹)	20
Ferro (mL L ⁻¹)	10

Fonte: DUARTE et al., 2012

3.3.2 Vinhaça

A vinhaça é o produto de calda na destilação do licor de fermentação do álcool de cana-de-açúcar, também conhecido, regionalmente, por restilo e vinhoto (SILVA, 2007). É um resíduo de grande potencial de contaminação ambiental, pois cada litro de álcool produzido gera dez a mais litros de vinhoto (Ferraz et al., 2000).

A vinhaça é caracterizado por ser um líquido de odor forte, coloração marrom- escuro, baixo pH, alto teor de potássio e com alta demanda química de

oxigênio (DBO), ou seja, com alta carga de matéria orgânica contida no efluente, torna-se um material altamente poluidor (SILVA, 2014). Além de uma elevada corrosividade, e uma alta temperatura na saída dos destiladores.

O constituinte principal da vinhaça é a matéria orgânica, basicamente sob a forma de ácidos orgânicos e, em menor quantidade, por cátions como o K, Ca e Mg, sendo que sua riqueza nutricional está ligada à origem do mosto (SILVA, 2014). Quando se parte de mosto de melaço, apresenta maiores concentrações em matéria orgânica, potássio, cálcio e magnésio, ao passo que esses elementos decaem consideravelmente quando se trata de mosto de caldo de cana, como é o caso de destilarias autônomas (ROSSETTO, 1987).

3.3.3 Bagaço de cana-de-açúcar

O bagaço de cana-de-açúcar é um subproduto fibroso proveniente dos talos de cana-de-açúcar após o processo de extração de caldo rico em carboidratos fermentescíveis, principalmente a sacarose (SOARES, 2012). Pires et al. (2004) caracterizam ainda como um alimento com altos teores de parede celular uma fonte de fibra importante para manter a saúde ruminal, baixa densidade energética e baixa em proteína e minerais, constituindo um volumoso de baixo valor nutritivo.

Quimicamente, o bagaço de cana-de-açúcar é constituído de 50% de celulose, 30% de pentoses e 2,4% de cinzas (SOARES, 2012). O bagaço de cana-de-açúcar vem sendo pesquisado para ser reaproveitado, como por exemplo, alimentação animal, a produção de etanol de segunda geração, justamente devido ao baixo teor de lignina e a significativa liberação de açúcares quando métodos adequados de pré-tratamento são utilizados (CARDONA et al., 2010). E ainda tem sido investigado para produção comercial de xilose, glicose e outros açúcares (LAVARACK et al., 2002).

3.3.4 Borra de café

Dentre as bebidas mais consumidas no mundo está o café, a sua produção mundial chegou a ser superior a 105 milhões de toneladas por ano (XIMENES, 2010). O Brasil é o segundo maior consumidor desse estimulante no mundo.

Contudo, a grande produção e consumo de café originam uma enorme quantidade de resíduos, nas quais se inclui a borra de café (FERREIRA, 2011).

A borra de café pode ser utilizada na agricultura, como fertilizantes devido ao seu alto teor de matéria orgânica e de macro e micronutrientes. Também como ração animal em que a composição de aminoácidos afeta diretamente o seu valor nutricional, porém, pode ser misturada a outros tipos de rações, melhorando seu valor nutricional. A borra de café ainda pode ser utilizada na indústria energética e alimentícia. A Tabela 4 mostra a composição orgânica e mineral da borra de café.

Tabela 4: Composição orgânica e mineral da borra de café.

Parâmetros	Concentração (%)
Matéria Orgânica	90,46
Carbono/Azoto (C/N)	22/1
Azoto	2,30
Fósforo	0,15
Potássio	0,35
Cálcio	0,08
Magnésio	0,13
Alumínio	0,03
Ferro	0,01

Fonte: FERREIRA, 2011

3.3.5 Óleo pós-fritura

A fritura de alimentos é uma operação importante por ser um processo econômico, rápido e prático de preparação, em que há transferência de calor do óleo de fritura para o alimento, proporcionando aos alimentos características únicas de aroma, sabor e textura. Contudo, é um método complexo, já que envolve uma série de fatores a serem controlados, tais como o tempo, temperatura, tipo de equipamento, tipo de óleo e alimento, presença de antioxidantes, ar e água (JORGE, 2005). O óleo quando exposto a altas temperaturas por longos períodos sofre oxidação e hidrólise dos seus triglicerídeos, comprometendo suas propriedades nutricionais, como os ácidos graxos, perdendo também antioxidantes,

tocofenolácidos, sofrendo severas transformações químicas e físicas, como aumento da viscosidade, cor do óleo e odor desagradável (COSTA NETO; FREITAS, 1996).

Os óleos e gorduras são, por definição, substâncias hidrofóbicas que podem ser de origem animal ou vegetal (LIMA, 2007). Sua constituição química é composta por triglicerídeos, que é um produto da condensação do glicerol e ácidos graxos. Ele ainda contém cadeias carbônicas de oito a vinte e quatro átomos de carbono com diferentes graus de insaturação, a composição química varia de espécie oleaginosa e são expressas por relação molar entre os diferentes ácidos graxos presentes na estrutura. Os ácidos graxos são os principais componentes dos óleos e gorduras, (MORETTO; FETT, 1998) apresentam-se como compostos que desempenham importante papel nutricional no organismo humano e animal.

A diferença entre gordura e óleo é baseada no seu estado físico, em que a gordura é sólida e o óleo é líquido, ambos a uma temperatura de até 20°C (DABDOUB et al., 2006). O óleo vegetal, que é o que dá origem aos óleos de cozinha, pode ser obtido de várias plantas, ou sementes como o buriti, mamona, soja, canola, girassol, milho, entre outros. (SALGADO, 2013).

A crescente preocupação em relação ao meio ambiente e o aumento do uso do óleo de cozinha, frequentemente utilizado em frituras, sem falar no mal que o “excesso” pode causar ao organismo, também produz dano ao meio ambiente se jogado pelo ralo da pia, pois provoca o entupimento das tubulações nas redes de esgoto, aumentando em até 45% os seus custos de tratamento (BIODIESEL, 2008).

A destinação correta para o óleo de pós-fritura é reutilização, no qual pode ser utilizado como matéria-prima na produção de resina para tintas, sabão, detergente, amaciante, sabonete, glicerina, ração para animais, biodiesel, lubrificante para carros e máquinas agrícolas e outros. (PORTO ALEGRE, 2008). Sendo a produção de sabão a alternativa de reaproveitamento mais utilizada, pela sua simples produção tecnológica de reciclagem.

4 METODOLOGIA

Foram realizados dois experimentos, onde o experimento I teve um planejamento experimental 2², contendo manipueira e vinhaça e o experimento II um planejamento experimental 2³ na qual continha borra de café, bagaço de cana-de-açúcar e óleo pós-fritura ambos incubados por 72 horas, 28°C e 155 rpm.

4.1 MATERIAIS

4.1.1 Microrganismo

Utilizou-se a bactéria *Serratia marcescens* UCP 1549, isolada do solo de bananeiras em Recife –PE. Ela foi obtida no Banco de Culturas do Núcleo de Pesquisa em Ciências Ambientais (NPCIAMB) da Universidade Católica de Pernambuco – UNICAP, registrado no World Federation Culture Collection (WFCC). As culturas foram mantidas em tubos inclinados (AN) em meio Luria Bertani (LB) a 4°C.

4.1.2 Meio de cultura e condições de cultivos

A amostra de *Serratia marcescens* UCP 1549 foi incubada sob agitação de 150 rpm durante 16 horas em frascos de Erlenmeyers de 250 mL de capacidade com 50 mL de meio Luria Bertani (LB), constituído por triptona (10g/mL), extrato de levedura (5 g/mL), cloreto de sódio (10 g/mL), suplementado com glicose (5 mg/ml) segundo KONISHI et al. (2000).

4.1.3 Substrato

Resíduos agroindustriais foram utilizados como substrato para a produção de biossurfactantes foi a Manipueira, Vinhaça, Óleo pós-fritura, Bagaço de Cana-de-açúcar e Borra de café.

4.1.4 Produção do biossurfactante

Nas fermentações para a produção do biossurfactante foram utilizados frascos de Erlenmeyers de 250 mL de capacidade contendo 100 mL do meio de acordo com o Planejamento Fatorial Experimental. Os frascos foram mantidos sob agitação orbital de 155 rpm, incubados por 72 horas, sob uma temperatura de 28°C. As células serão separadas do líquido metabólico por centrifugação a 10.000g por 15 min, e depois sendo filtrado em Millipore de 0,45 µm para separação total das células. O líquido metabólico livre de células foi utilizado para as seguintes determinações: Índice de emulsificação e tensão superficial.

4.2 MÉTODOS ANALÍTICOS

4.2.1 Índice de emulsificação

A determinação do índice de emulsificação (E24) foi realizada em todas as condições do planejamento experimental utilizando para cada condição substratos diferentes como: óleo de milho, óleo pós-fritura e óleo de girassol. Foi determinado pela adição de 2,0 mL do líquido metabólico livre de células e 2,0 mL do óleo vegetal, misturando-se em vortex por 2 min e deixando em repouso por 24 h. O índice foi calculado como porcentagem da altura da camada emulsificada, como mostra a equação 1 (Cooper e Goldenberg, 1987).

$$\text{Índice de Emulsificação} = \frac{H_e \times 100}{H_t} \quad (1)$$

Onde: H_e = Altura de emulsão

H_t = Altura Total do Líquido

4.2.2 Tensão superficial

A tensão superficial foi medida pelo método do peso da gota. Foi empregada uma bureta comum para a obtenção das gotas, equipamento acessível, segundo a metodologia proposta por BEHRING (2004).

4.3 MÉTODOS ESTATÍSTICOS

O experimento I foi realizado com o planejamento experimental do tipo 2² e o experimento II foi com o planejamento experimental do tipo 2³, sendo realizado de acordo com as condições estabelecidas nas Tabelas 5 e 6, respectivamente, com o objetivo de avaliar a influência das variáveis independentes manipueira, borra de café, bagaço de cana-de-açúcar, vinhaça e óleo pós-fritura. Foram realizados dois experimentos, onde o primeiro foi feito com a manipueira e vinhaça e o segundo com a borra de café, bagaço de cana-de-açúcar e óleo pós-fritura.

Tabela 5: Matriz codificada do planejamento experimental do tipo 2² do experimento I.

Condições	Manipueira	Vinhaça
1	-1	-1
2	-1	+1
3	+1	-1
4	+1	+1
5	0	+1,41
6	0	-1,41
7	+1,41	0
8	-1,41	0
9	0	0
10	0	0
11	0	0
12	0	0

Fatores (%): Vinhaça: -1,41 (1,59), -1 (2); 0 (3); +1 (4), +1,41 (4,41), Manipueira: -1,41 (12,95), -1 (15); 0 (20); +1 (25), +1,41 (27,05)

Tabela 6: Matriz codificada do planejamento experimental do tipo 2³ do experimento II.

Condições	Bagaço de cana-de-açúcar	Borra de café	Óleo pós-fritura
1	-1	-1	-1
2	+1	-1	-1
3	-1	+1	-1
4	+1	+1	-1
5	-1	-1	+1
6	+1	-1	+1
7	-1	+1	+1
8	+1	+1	+1
9	0	0	0
10	0	0	0
11	0	0	0
12	0	0	0

Fatores (%): Bagaço de Cana de Açúcar: -1 (2); 0 (3); +1 (4), Borra de Café: -1 (15); 0 (20); +1 (25) e Óleo pós-fritura: -1 (5); 0 (10); +1 (15)

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O alto custo da produção de biossurfactantes tem dificultado a sua aplicação em escala industrial, e esse custo está associado ao uso de substratos dispendioso, porém ele pode ser significativamente reduzido utilizando fontes alternativas de nutrientes como substrato, como por exemplo, os resíduos agroindustriais, que deixará de ser lançado no meio ambiente, causando poluição ambiental, para ser reutilizado como substrato na produção de biossurfactantes.

5.1 EXPERIMENTO I: MANIPUEIRA E VINHAÇA

A Tabela 7 apresenta a produção de biossurfactantes utilizando o planejamento experimental 2² como variáveis de resposta do índice de emulsificação (E₂₄) e tensão superficial (mN/m), após 72 horas de cultivo à 28°C e 155 rpm. Em todas as condições além das variáveis estabelecidas pelo planejamento experimental, foi adicionado 5 mL de óleo pós-fritura e 2 mL do pré-inóculo contendo a bactéria *Serratia marcescens* UCP 1549.

Tabela 7: Resultado da fermentação da *Serratia marcescens* UCP 1549 (72 horas, 28 °C e 155 rpm) para Índice de Emulsificação e Tensão Superficial.

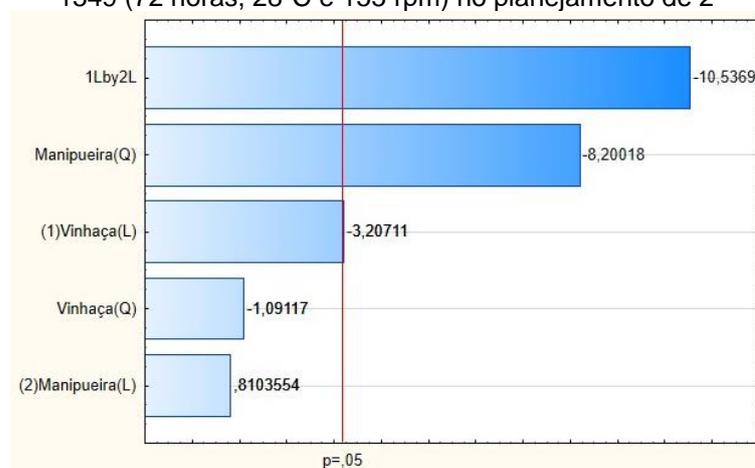
Condições	Vinhaça	Manipueira	E ₂₄ - % (Óleo soja pós-fritura)	E ₂₄ - % (Óleo de Milho)	E ₂₄ - % (Óleo de Girassol)	Tensão Superficial (mN/m)
1	-1	-1	60,00	50,00	52,94	32,19
2	-1	+1	79,31	46,67	85,71	37,01
3	+1	-1	62,86	36,67	32,26	36,90
4	+1	+1	40,00	86,67	34,48	27,49
5	0	+1,41	46,67	86,67	94,29	35,64
6	0	-1,41	64,29	86,21	41,18	31,30
7	+1,41	0	40,00	33,33	33,33	36,8
8	-1,41	0	40,00	36,67	28,57	37,73
9	0	0	81,20	86,98	67,86	37,63
10	0	0	82,71	85,76	68,28	37,21
11	0	0	83,33	86,76	67,74	36,44
12	0	0	82,86	86,67	68,00	36,17

Fatores (%): Vinhaça: -1,41 (1,59), -1 (2); 0 (3); +1 (4), +1,41 (4,41), Manipueira: -1,41 (12,95), -1 (15); 0 (20); +1 (25), +1,41 (27,05)

A condição 4 foi a que apresentou a menor redução de tensão superficial obtendo um valor de 27,49 mN/m. Em estudos similares Salgado (2013) utilizando a *Serratia marcescens* UCP 1549, e como substrato manipueira, glicose e óleo pós-fritura, o melhor resultado foi 27,48 mN/m. Já Alves et al. (2014), utilizando a *Serratia marcescens* e como substrato a manipueira, parafina e óleo pós-fritura, foi de 33 mN/m. E Rodríguez (2014), utilizando a mesma bactéria e como substrato a manipueira e óleo de milho pós-fritura, obteve um resultado de 26,2 mN/m.

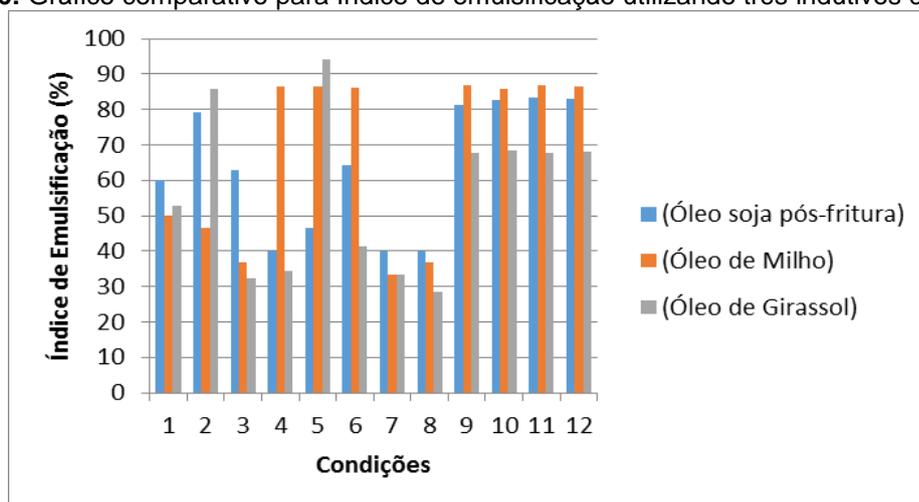
O Diagrama de Pareto (Figura 5) com nível de confiança de 95%, realizado pelo pacote computacional “STATISTICA” versão 10, analisou os efeitos das variáveis independentes (Manipueira e Vinhaça) e as interações entre elas sobre a variável dependente, a tensão superficial. O diagrama apresentou valores estatisticamente significativos para manipueira quadrática, a interação linear da manipueira e vinhaça e a vinhaça linear, e todas as variáveis ajudou negativamente, ou seja, elas reduziram a tensão superficial.

Figura 5: Diagrama de Pareto para tensão superficial na fermentação da *Serratia marcescens* UCP 1549 (72 horas, 28°C e 155 rpm) no planejamento de 2^2



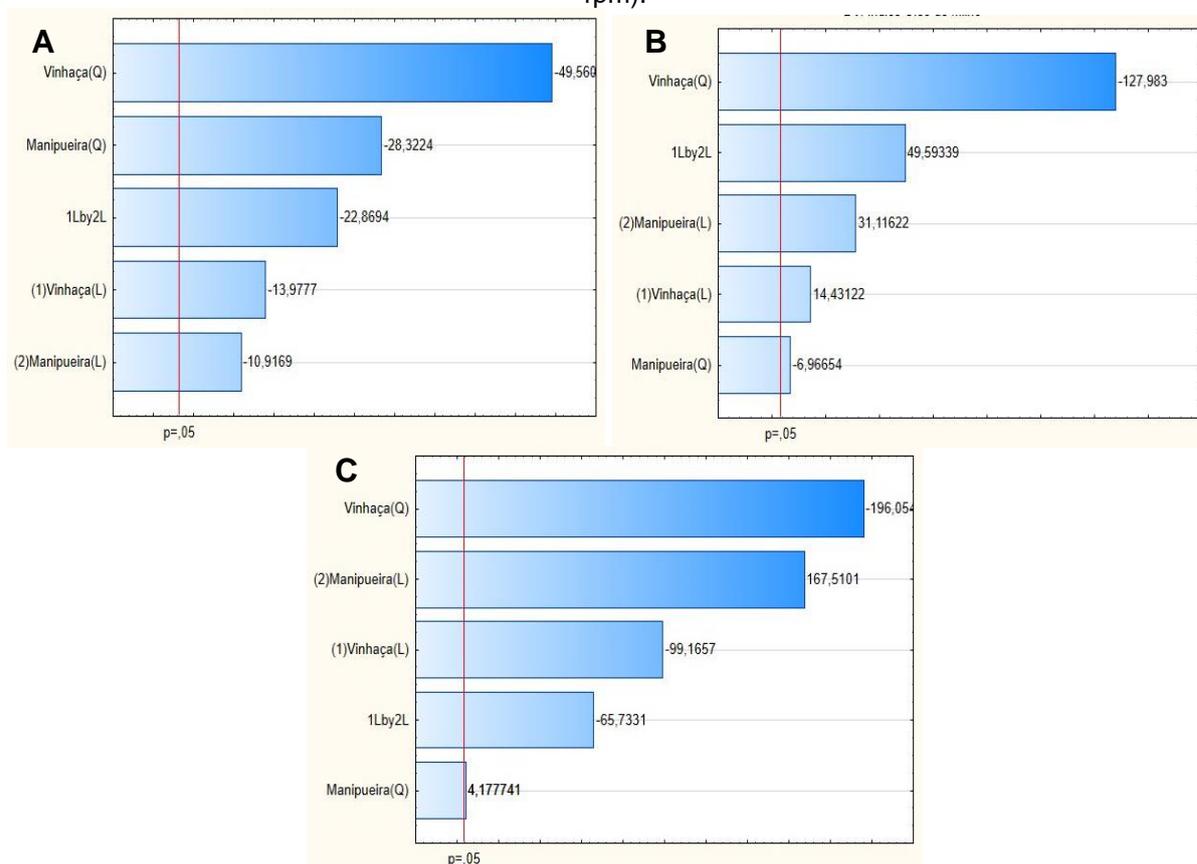
A Figura 6 mostra o comparativo do índice de emulsificação (E_{24}) utilizando diferentes tipos de óleos. O melhor valor de índice de emulsificação foi obtido na condição 5 com óleo de girassol com 94,29%. Para Santos et al. (2010) utilizando *Pseudomonas fluorescens* produziu índices de emulsificação de 61,54% e 50% e Bezerra et al. (2012) utilizando *Pseudomonas aeruginosa* obteve resultados variando de 50 a 68%.

Figura 6: Gráfico comparativo para Índice de emulsificação utilizando três indutivos diferentes.



A Figura 7 mostra o Diagrama de Pareto, com 95 % de confiança, da interação das variáveis independentes (Manipueira e Vinhaça) em relação a variável dependente, o índice de emulsificação.

Figura 7: Diagrama de Pareto para avaliação do efeito das variáveis: **A** – Índice de emulsificação para Óleo pós-fritura; **B** – Índice de Emulsificação para Óleo de milho; **C** – Índice de Emulsificação para Óleo de Girassol, na fermentação da *Serratia marcescens* UCP 1549 (72 horas, 28°C e 155 rpm).



Como observado na Figura 7, todas as variáveis, dependentes e independentes, tiveram resultados significativos estatisticamente, porém na figura 7A, para óleo pós-fritura, as variáveis agiram de forma negativa para a formação de emulsões. Já na figura 7B e 7C tiveram variáveis que atuaram positivamente para a formação de emulsões, na qual a figura 7C foi a manipuladora linear e a quadrática, e a figura 7B, que apresentou o melhor resultado estatístico para a formação de emulsificação, que teve todas as variáveis lineares e as interações entre elas agindo para que houvesse emulsificação.

5.2 EXPERIMENTO II: BORRA DE CAFÉ, BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR E ÓLEO PÓS-FRITURA

A tabela 8 apresenta a produção de biossurfactantes utilizando o planejamento experimental 2^3 após 72 horas de cultivo à 28°C e 155 rpm.

Tabela 8: Resultado da fermentação da *Serratia marcescens* UCP 1549 (72 horas, 28°C e 155 rpm) para Índice de Emulsificação e Tensão Superficial.

Condições	Bagaço de Cana-de-açúcar	Borra de Café	Óleo pós-fritura	E24 - % Óleo pós-fritura	E24 - % Óleo de Girassol	Tensão Superficial (mN/m)
1	-1	-1	-1	66,00	44,00	40,26
2	+1	-1	-1	62,90	56,00	36,46
3	-1	+1	-1	55,00	47,33	39,75
4	+1	+1	-1	58,46	62,00	39,22
5	-1	-1	+1	66,70	56,00	36,35
6	+1	-1	+1	50,77	54,61	36,93
7	-1	+1	+1	65,66	62,50	40,25
8	+1	+1	+1	53,33	56,00	41,36
9	0	0	0	62,31	57,16	43,43
10	0	0	0	63,48	56,81	43,69
11	0	0	0	63,00	57,00	42,85
12	0	0	0	63,33	57,50	42,90

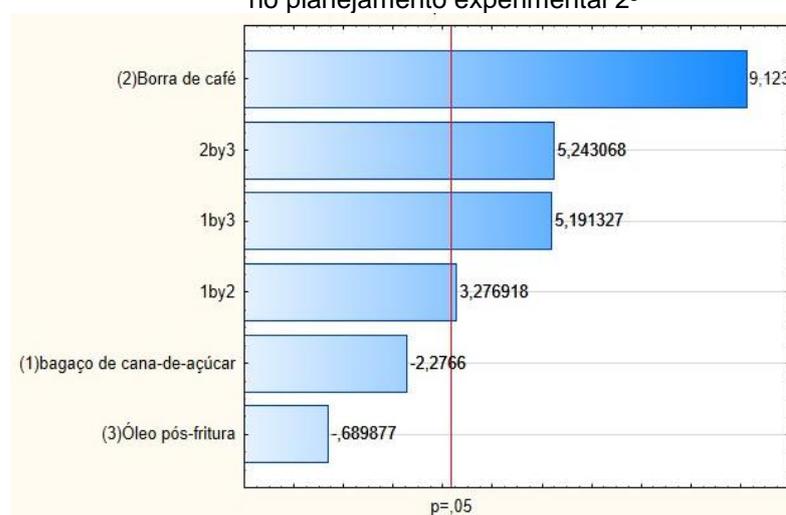
Fatores (%): Bagaço de Cana de Açúcar: -1 (2); 0 (3); +1 (4), Borra de Café: -1 (15); 0 (20); +1 (25) e Óleo pós-fritura: -1 (5); 0 (10); +1 (15)

Analisando a tabela 8, o melhor resultado obtido para a tensão superficial foi a condição 5, com o valor de 36,35 mN/m. Araújo *et al* (2009), utilizando surfactantes químicos Triton X – 100 e Span 20, obtiveram uma tensão superficial de 31,10 mN/m e 29,30 mN/m, respectivamente. Lima (2012) utilizando o fungo *Aspergillus ochraceus* e como substrato o bagaço de cana-de-açúcar, foi obtido uma

tensão superficial de 52,9 mN/m. Já Martins (2011) utilizando óleo de borra de café reduziu a tensão superficial para 37,2 mN/m.

Na figura 8 mostra os efeitos das variáveis independentes (Borra de Café, Bagaço de cana-de-açúcar e Óleo pós-fritura) e as interações entre elas sobre a variável resposta, a tensão superficial. A borra de café e as interações entre as variáveis apresentaram uma significância estatística, porém não influenciaram na redução da tensão superficial.

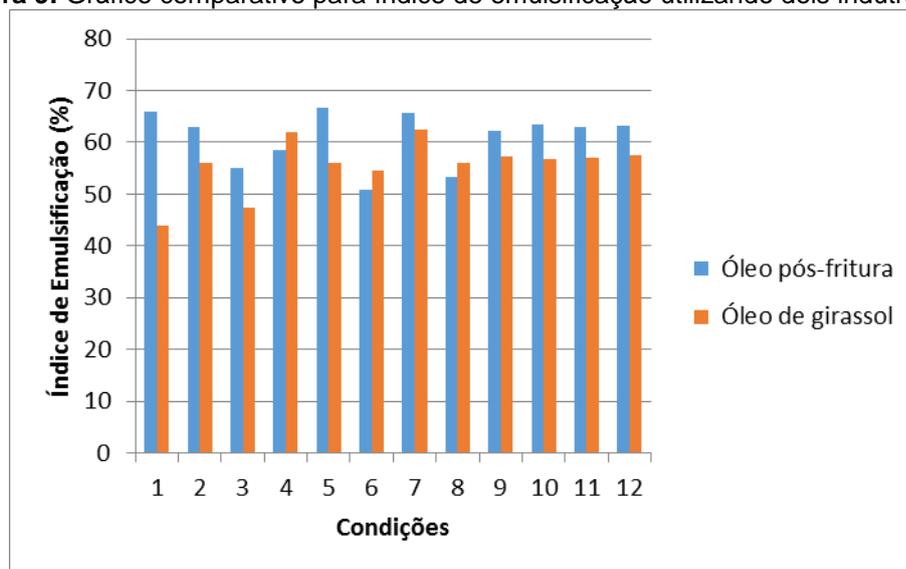
Figura 8: Diagrama de Pareto para avaliação do efeito da variável sobre a tensão superficial no planejamento experimental 2^3



Embora a tensão superficial em estudo, em relação à literatura, tenha sido melhor, estatisticamente elas não apresentaram uma significância na redução da tensão superficial, provavelmente por causa da quantidade de borra de café utilizada, portanto se faz necessário uma otimização do planejamento experimental.

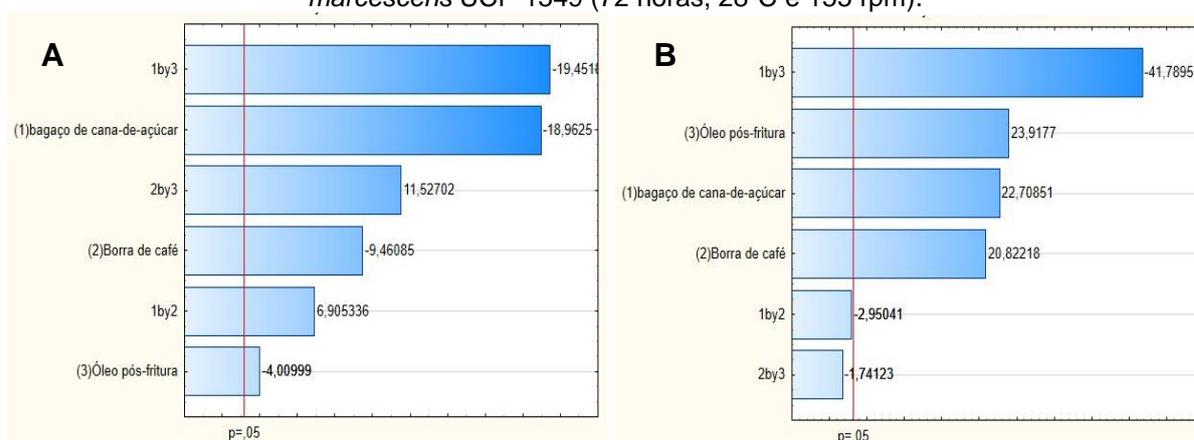
Para o índice de emulsificação a condição 5 apresentou o melhor valor, com 66,70% utilizando óleo pós-fritura como indutor. CIAPINA (2008) obteve um índice de emulsificação de 67% utilizando *Rhodococcus erythropolis* e como substrato o hexadecano, Lima (2012) usou o fungo *Aspergillus ochraceus* e como substrato o bagaço de cana-de-açúcar, alcançou uma emulsificação de 44,21%. Já Rodríguez (2014) utilizando *Serratia marcescens* obteve um índice de emulsificação de 64% com o indutivo o diesel. A figura 9 compara o resultado do índice de emulsificação (E_{24}) utilizando dois óleos diferentes (óleo pós-fritura e óleo de girassol).

Figura 9: Gráfico comparativo para índice de emulsificação utilizando dois indutivos diferente.



Os Diagramas de Paretos (figura 10) apresentam que os resultados foram estatisticamente significativos, tendo o índice de emulsificação com óleo de girassol (10B) com as melhores características de emulsificação, pois suas variáveis contribuíram positivamente para a formação das emulsões. Já a figura 10A (Óleo pós-fritura) todos os resultados tiveram representatividade estatística, porém a maioria contribuiu negativamente para a formação de emulsões.

Figura 10: Diagrama de Pareto para avaliação do efeito das variáveis: **A** – Índice de emulsificação para Óleo pós-fritura; **B** – Índice de Emulsificação para Óleo de girassol, na fermentação da *Serratia marcescens* UCP 1549 (72 horas, 28°C e 155 rpm).



Diante das análises experimentais e estatísticas é necessário refazer o planejamento experimental otimizando as quantidades das variáveis independentes, para a obtenção de um bom biossurfactante.

5.3 COMPARAÇÕES ENTRE OS EXPERIMENTOS I E II

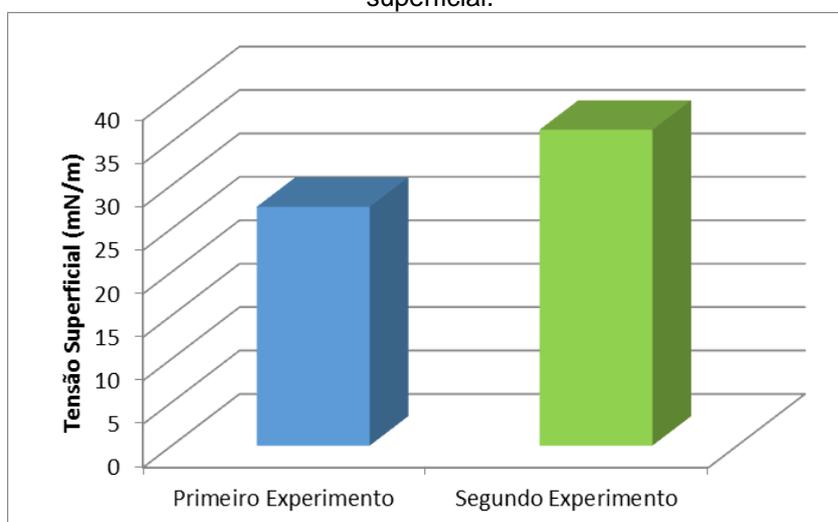
Os resultados obtidos nos experimentos I e II foram satisfatórios para a produção de biossurfactantes. A tabela 9 mostra os melhores resultados obtidos nos experimentos I e II, na qual observar-se que houve uma produção de biossurfactantes satisfatória, levando em consideração a tensão superficial e o índice de emulsificação.

Tabela 9: Os melhores resultados obtidos nos experimentos I e II.

	Tensão Superficial (mN/m)	Índice de Emulsificação - E ₂₄ (%)
Experimento I	27,49	94,29
Experimento II	36,35	66,70

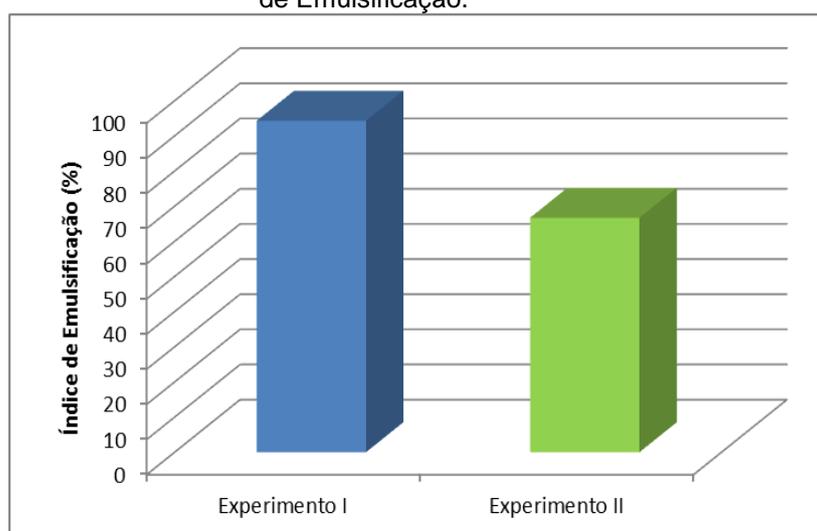
Para tensão superficial, a figura 11 apresenta um comparativo entre os experimentos I e II, tendo o experimento I o melhor resultado na redução da tensão superficial, reduzindo de 67 mN/m para 27,49 mN/m, contendo 4% de vinhaça e 25% de manipueira. O experimento II, com 2% de bagaço de cana-de-açúcar, 15% de borra de café e 15% de óleo pós-fritura, teve uma excelente redução de tensão superficial comparada com Araújo et al. (2009), Lima (2012) e Martins (2011), obtendo um valor de 36,35 mN/m.

Figura 11: Gráfico comparativo dos melhores resultados nos experimentos I e II para tensão superficial.



Para índice de emulsificação, no experimento I continha 3% de vinhaça e 27,05% de manipueira, obteve uma emulsificação de 94,29% para óleo de girassol com indutivo, e no experimento II com 2% de bagaço de cana-de-açúcar, 15% de borra de café e 15% de óleo pós-fritura, apresentou um resultado de 66,70% para óleo pós-fritura com indutivo, como mostra a figura 12.

Figura 12: Gráfico comparativo dos melhores resultados nos experimentos I e II para Índice de Emulsificação.



O experimento I nas condições estudadas obteve o melhor resultado para a produção de biossurfactante, onde houve uma maior redução de tensão superficial e uma maior formação de microemulsões, provavelmente isso se deu pela composição e uma melhor distribuição de nutrientes necessários para que a bactéria *Serratia marcescens* UCP 1549 produza biossurfactantes. O experimento II necessita de otimização no seu planejamento experimental para que haja uma melhor formação de microemulsões e uma maior redução de tensão superficial.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As conservações de resíduos agroindustriais para insumo representam um novo fluxo de produção de biossurfactantes para o âmbito industrial, com o diferencial de serem produtos descartados em certas atividades e reutilizados como matéria-prima para a produção de biossurfactantes.

Os resultados obtidos mostram que a bactéria *Serratia marcescens* UCP 1549 tem potencial para a produção de biossurfactante utilizando como substratos os resíduos agroindustriais, principalmente no experimento I, com manipueira e vinhaça. A utilização desses resíduos diminui o custo de produção, além de minimizar os impactos ambientais e agregar valor econômico aos biossurfactantes.

As condições analisadas no experimento I apresentaram uma eficiência na formação de emulsões e na redução da tensão superficial.

No experimento II deverá ocorrer uma otimização no planejamento experimental para a obtenção de melhores resultados nas variáveis respostas, a tensão superficial e o índice de emulsificação.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACIOLY, Leonila Maria Leandro. **Produção de Biossurfactante por *Bacillus subtilis* UCP 0999 em substratos não convencionais e de baixo custo.** Dissertação da Universidade Católica de Pernambuco, Programa de Pós-graduação em Desenvolvimento em Processos Ambientais, Recife – PE, 2009.

ALVES, T. S.; SALGADO, J.P.; MONTERO-RODRÍGUEZ, D.; FERREIRA, W. B.; ALMEIDA, M. M.; CAMPOS-TAKAKI, G.M.; ARAÚJO, H. W. C. **Production and Evaluation of Biosurfactant by *Serratia marcescens* UCP 1549 using industrial wastes.** British Biotechnology Journal, 4 (6): 708-719, 2014.

ANDRADE, R. F. S. **Potencial biotecnológico de *Rhodotorula glutinis* UCP/WFCC 1555 na degradação de derivados do petróleo e na produção simultânea de biossurfactante e β -caroteno.** Tese de Doutorado. Recife: Universidade Federal de Pernambuco, 2014.

ARAGÃO, M. do L.; PONTE, J. J. da. **O uso da manipueira – extrato líquido das raízes de mandioca – como adubo foliar.** Ciência Agronômica, v. 26, n. 1/2, 1995.

ARAÚJO, H. W. C. **Caracterização Morfológica e Molecular de uma Nova Linhagem de *Serratia marcescens* e Potencial Biotecnológico na Produção de Biossurfactantes Prodigiosina e na Utilização de Dibenzotiofeno (DBT).** Tese de Doutorado do Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, Recife, 2010.

ARAÚJO, H.W.C.; CEBALLOS, B.S.O.; CAMPOS-TAKAKI, G.M. **Biosurfactant production by *Chromobacterium prodigiosum*.** In Current Research Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotchnology, Singapore, p. 676-681, 2009.

AUCKEN, H. M.; PITT, T. L. **Antibiotic resistance and putative virulence factors of *Serratia marcescens* with respect to O and K serotypes.** J. Med. Microbiol., v. 47, p. 1105–1113, 1998.

BAKKIYARAJ, D.; SIVASANKAR, C.; PANDIAN, S. K.. **Inhibition of quorum sensing regulated biofilm formation in *Serratia marcescens* causing nosocomial infections**. Bioorganic & medicinal chemistry letters, v. 22, n. 9, p. 3089-3094, 2012.

BARROS, F. F. C.; QUADROS, C. P.; MARÓSTICA, M. R.; PASTORE, M. G. **Surfactina: propriedades químicas, tecnológicas e funcionais para aplicações em alimentos**. Química Nova, v. 30, n. 2, p. 01-14, 2007.

BEHRING, J.L.. **Adaptação no método do peso da gota para determinação da tensão superficial: um método simplificado para a quantificação da CMC de surfactantes no ensino da química**. Química Nova, v. 27, n.3, p. 492-495, 2004.

BEZERRA, M. S. **Estudo da produção de biossurfactantes sintetizados por *Pseudomonas aeruginosa* AP029-GVIA utilizando manipueira como fonte de carbono**. Tese de Doutorado. Natal: [s.n.], 2012. 123 p.

BEZERRA, M.S *et al.* **Produção de biotensioativo utilizando *Pseudomonas aeruginosa* (P.A) e resíduo agroindustrial (manipueira) como substrato**. HOLOS, 2012.

BHARTI, R. K., SRIVASTAVA, S., & THAKUR, I. S. **Extraction of extracellular lipids from chemoautotrophic bacteria *Serratia* sp. ISTD04 for production of biodiesel**. Bioresource technology, v. 165, p. 201-204, 2014.

BIODIESEL. **Reciclagem de óleo de cozinha**. Disponível em: <www.biodieselbr.com>. Acessado em abril de 2016.

BUGAY, CRYSHELEN; **Biossurfactantes Produzidos por *Bacillus* sp.: Estudos de Produção e Caracterização**. Dissertação da Universidade Federal do Paraná, Programa de Pós-Graduação em Química, Curitiba, 2009.

CALVO, C.; MANZARENA, M.; SILVA-CASTRO, G. A.; UAD, I.; and GONZALEZ-LOPES, J. **Application of bioemulsifiers in soil oil bioremediation processes.** Future prospects, Sci Total Environ. 2008.

CAMPOS-TAKAKI, G.M.; SARUBBO L.A, ALBUQUERQUE C.D. **Environmentally friendly biosurfactants produced by yeasts.** Adv Exp Med Biol, v. 672, p. 250-260, 2010.

CARDONA, C. A.; QUINTERO, J. A.; PAZ, I. C. **Production of bioethanol from sugarcane bagasse: Status and perspectives.** Bioresource Technology, v. 101, p. 4754-4766, 2010.

CERQUEIRA, V.S., COSTA, J.A. **Biodegradação de tolueno e óleo de pescado em solos impactados utilizando surfactantes químico e biológico.** Química Nova. v. 32, p. 2, 2009.

CHEIRSILP, B.; LOUHASAKUL, Y. **Industrial wastes as a promising renewable source for production of microbial lipid and direct transesterification of the lipid into biodiesel.** Bioresour Technol, v. 142, p. 329-337, 2013.

CIAPINA, E. M. P. **Produção de biossurfactante por *Rhodococcus erythropolis* em biorreator de bancada e avaliação do seu efeito na biodegradação de borra oleosa da indústria do petróleo.** Tese da Escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

COOPER, D. G. and GOLDENBERG, B. G. **Surface active agents from two *Bacillus* species** Appl. Environ. Microbiol., v. 53, p 224 –229, 1987.

COSTA, S. G. V. A. O. **Estudo da produção de metabólitos por *Pseudomonas aeruginosa*: ramnolipídeos e polihidroxicanoatos (PHAs).** [S.l.]: [s.n.], 2010, p. 136.

COSTA NETO, P. R.; FREITAS, R. J. S. **Boletim CEPPA.** 1996.

DABDOUB, M.J.; BORTOLETO, D.A.; SELLANI, V.D.; RAMPIN, M.A.; SILVA, C.P. DA. LIVRETO. **Biodiesel em casa e nas escolas**. SP: Laboratório de desenvolvimento de tecnologias limpas de Ribeirão Preto, 2006.

DESAI, J.D.; BANAT, I.M. **Microbial production of surfactants and their comercial potential**. Microbiology and Molecular Biology Reviews, New York, v. 61, n.1, p. 47-64, 1997.

DOI, Y., YOKOYAMA, K., YAMANE, K., WACHINO, J. I., SHIBATA, N., YAGI, T., & ARAKAWA, Y.. **Plasmid-mediated 16S RNA methylase in *Serratia marcescens* conferring highlevel resistance to aminoglycosides**. Antimicrobial agents and chemotherapy, v. 48, n. 2, p. 491-496, 2004.

DUARTE, A. de S.; SILVA, E. F. de F. e; ROLIM, M.M.; FERREIRA, R.F. de A. e L.; MALHEIROS, S.M.M.; ALBUQUERQUE, F. da S. **Uso de diferentes doses de manípua na cultura da alface em substituição à adubação mineral**. R. Bras. Eng. Agríc. Ambiental, v. 16, n.3, p 262-267, 2012.

FERRAZ, J. M. G.; PRADA, L. de S.; PAIXÃO, M. **Certificação socioambiental do setor sucroalcooleiro**. Jaguariuna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. 195p.

FERREIRA, A. D. **Influência da borra de café no crescimento e nas propriedades químicas e biológicas de plantas de alface (*Lactuca sativa* L.)**. Dissertação da Escola Superior Agrária de Bragança, do Instituto Politécnico de Bragança, 2011.

FONTES, Gizele Cardoso. **Produção de Biossurfactante por *Yarrowia lipolytica***. Dissertação da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Programa de pós-graduação em Tecnologia de processos químicos e bioquímicos, Rio de Janeiro – RJ, 2008.

GAUTAM, K. K.; TYAGI, V. K. **Microbial Surfactants: a review**. Journal of Oleo Science, v. 55, p. 155-166, 2006.

GUDIÑA, EJ; RANGARAJAN, V; SEN R, RODRIGUES LR. **Potential therapeutic applications of biosurfactants.** Trends Pharmacol. Sci., v. 34, n. 12, p. 667-675, 2013.

GUSMÃO, C. A. B.; RUFINO, R. D.; SARUBBO, L. **Laboratory production and characterization of a new biosurfactant from *Candida glabrata* UCP 1002 cultivated in vegetable fat waste applied to the removal as hydrophobic contaminant.** World Journal Microbial Biotechnol, v. 26, p. 1683-1692, 2010.

HEJAZI, A.; FALKINER, F. R. ***Serratia marcescens*.** J. Med. Microbiol. – v. 46, p. 903-912, 1997.

IGUCHI, A.; NAGAYA, Y.; PRADEL, E.; OOKA, T.; OGURA, Y.; KATSURA, K.; HAYASHI, T. **Genome evolution and plasticity of *Serratia marcescens*, an important multidrug-resistant nosocomial pathogen..** Genome biology and evolution, v. 6, n. 8, p. 2096-2110, 2014.

JORGE, N.; SOARES, B. B. P.; LUNARDI, V. M.; MALACRIDA, C. R. **Alterações físico-químicas dos óleos de girassol, milho e soja em frituras.** Química Nova, v. 28, n. 6, p. 947-951, 2005.

KALIVODA, EJ; STELLA, NA; ASTON, MA; FENDER, JE; THOMPSON, PP; KOWALSKI, RP; SHANKS, RM. **Cyclic AMP negatively regulates prodigiosin production by *Serratia marcescens*.** Res Microbiol, v. 161, n. 2, p. 158-167, 2010.

KARANTH, N.G.K.; DEO; P.G.; VEENANADIG, N.K. **Microbial production of biosurfactants and their Importance.** Bangalore: Current Science. v. 77, n. 1, p. 116-126, 1999.

KHANAFARI A.; ASSADI M. M.; FAKHR F. A. **Review of prodigiosin, pigmentation in *Serratia marcescens*.** J Biol Sci., v. 6, n. 1, p. 1-13, 2006.

KIM, Y.;KIM, K.; SEO, J.; SHRESTHA, S.; KIM, H. H., NALINI, M.; YI, Y. **Identification of na entomopathogenic bacterium, *Serratia* sp. ANU101, and its**

hemolytic activity. Journal of microbiology and biotechnology, v.19, n.3, p. 314-322, 2009.

KITAMOTO, D.; ISODA, H.; NAKAHARA, T. **Functions and potential applications of glycolipid biosurfactants - from energy-saving materials to gene delivery carriers.** Journal Bioscienciaen dbio Engineering, v. 94, n. 3, p. 187-201, 2002.

KONISHI, J.; ONAKA, T.; ISHII, Y.; SUZUKI, M. **Demonstration of carbon sulfur bond targeted desulfurization of benzothiophene by thermophilic *Paenibacillus* sp. Strain A11-2 capable of desulfurizing dibenzothiophene.** FEMS Microbiology Letters, 187, p. 151-154, 2000.

LAVARACK, B. P.; GRIFFIN, G. J.; RODMAN, D. **The acid hydrolysis of sugarcane bagasse hemicellulose to produce xylose, arabinose, glucose and other products.** Biomass and Bioenergy, v. 23, p. 280-367, 2002.

LIMA, B. M. **Produção de biossurfactantes pelos fungos *Aspergillus ochraceus* e *Penicillium expansum* em fermentação semi-sólida utilizando resíduos agroindustriais como substrato.** Dissertação da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, São José do Rio Preto, 2012

LIMA, C. J. B. de. **Produção de biossurfactante por *Pseudomonas aeruginosa* empregando óleo de soja residual.** Tese de Doutorado. Uberlândia: [s.n.], 2007. 168 p.

LIMA, C.J.B. de. **Produção de biossurfactante por *Pseudomonas aeruginosa* empregando óleo de soja residual.** Uberlândia – MG, 2007.

LUMA, J. M.; SARUBBO, L.; 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.

LUNA, J.M; RUFINO, R.D.; SARUBBO, L.A; CAMPOS-TAKAKI, G.M. **Characterization, surface properties and biological activity of a biosurfactant produced from industrial waste by *Candida sphaerica* UCP0995 for application in the petroleum industry.** Colloids and Surfaces. B, Biointerfaces, v. 102, p. 202-209, 2013.

MARTINS, A. C. G. **Valorização de borra de café através da produção de biossurfactantes.** Dissertação da Universidade de Aveiro, Aveiro, 2011.

MATSUYAMA, T.; TANIKAWA, T.; NAKAGAWA, Y. **Serrawettins and other surfactants produced by *Serratia*.** [S.I.]: In: **Biosurfactant.** Springer Berlin Heidelberg, 2011. 93-120 p.

MAYER, R. M.; SOBERON-CHAVEZ, G. ***Pseudomonas aeruginosa* rhamnolipids: biosynthesis and potencial application.** Applied Microbiology and Biotechnology, v. 54, p. 625-633, 2000.

MONTANER, B; NAVARRO, S; PIQUÉ, M; VILASECA, M; MARTINELL, M; GIRALT, E, GIL, J; PÉREZ-TOMÁS, R. **Prodigiosin from the supernatant of *Serratia marcescens* apoptosis in haematopoietic cancer cell lines.** Br J Pharmacol, v. 131, p. 585-593, 2000.

MORETTO, Eliane; FETT, Roseane. **Tecnologia de óleos e gorduras vegetais na indústria de alimentos.** São Paulo: Varela Editora e Livraria Ltda, 1998.

MUTHUSAMY, M. et al. **Biosurfactants: Properties, comercial production and application.** Current Science, Bangalore, v. 94, n. 6, p. 736-747, 2008.

MYERS, D. **Surfaces, Interfaces, and Colloids: Principles and Applications,** 2^o Ed. John Wiley & Sons Inc, 501 pp, 1999.

NITSCHKE, Marcia; PASTORE, Gláucia Maria. **Biossurfactantes: Propriedades e Aplicações.** Química Nova, Vol. 25, Nº. 5, pg. 772-776, 2002.

PÉREZ-TOMÁS, R; MONTANER,B; LLAGOSTERA, E; SOTO-CERRATO, V. **The prodigiosins, proapoptotic drugs with anticancer properties.** Biochem Pharmacol, v. 66, p. 1447-1452, 2003.

PIRES, A.J.V.; GARCIA, R.; VALADARES FILHO, S.C.; PEREIRA, O.G.; CECON, P.R.; SILVA, F.F.; SILVA, P.A.; ITAVO, L.C.V. **Degradabilidade do bagaço de cana-de-açúcar tratado com amônia anidra e, ou, sulfeto de sódio.** Revista Brasileira de Zootecnia, v.33, p.1071-1077, 2004.

PIROLLO, Maria Paula Santos. **Estudo da produção de biossurfactantes utilizando hidrocarbonetos.** Dissertação da Universidade Estadual Paulista, Pós-graduação em Ciências Biológicas, Rio Claro - SP, 2006.

PONTE, J. J. **Histórico das pesquisas sobre a utilização da manipueira (extrato líquido das raízes da mandioca) como defensivo agrícola.** Fitopatologia Venezuelana, Maracay, v. 5, n. 1, p. 2-5, 1992.

PORTO ALEGRE. Meio Ambiente. Disponível em: <www2.portoalegre.rs.gov.br>. Acessado em abril de 2016.

RAHMAN, P.K. S. M.; GAKPE, E. Production, characterization and applications of biosurfactants – review. **Biotechnology**, v. 7, p. 360-370, 2008.

REDDY, C. A. **The potencial for White-rot fungi in the treatment of pollutants.** Environmental Biotechnology. V. 6, p. 320-328, 1995.

RODRÍGUEZ, D. M.; ANDRADE, R.F.S.; RIBEIRO, D. L. R.; LIMA, R. A.; ARAUJO, H. W. C.; CAMPOS-TAKAKI, G. M. **Ability of *Serratia marcescens* UCP/WFCC 1549 for biosurfactant production using industrial wastes and fuels biodegradation.** Industrial, medical and environmental applications of microorganisms. Current status and trends, 22-27 p., 2014.

RODRÍGUEZ, D. M. **Potencial biotecnológico de *Serratia marcescens* UCP/WFCC 1549 na degradação de combustíveis, na produção de lipídeos e de**

biossurfactante. Dissertação da Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2015.

ROSSMANN, Maíke. **Otimização da produção e propriedades tensoativas de Biossurfactantes em meios à base de melão e manipueira.** Dissertação da Universidade Federal de Viçosa, Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola, Minas Gerais, 2008.

SALGADO, Jaqueline Pereira. **Produção de biossurfactante por *Serratia Marcescens* UCP 1549 utilizando resíduos industriais e substratos de baixo custo.** Universidade Estadual da Paraíba, 2013.

SANTOS, L. Q. *et al.* **Produção de biossurfactante por *Pseudomonas fluorescens* em caldo de abacaxi (*Ananas comosus*) com óleo de girassol pós-fritura e aplicação na remoção de derivados do petróleo.** *Exacta*, v.8, n.2, p. 201-210, 2010.

SANTOS, A. B. C.; PONTES, J. J. da. **Ação fungicida da manipueira no controle de Oídio.** *Fitopatologia brasileira*, v. 18, p. 302, 1993.

SCHULTZ, Fabíola Medeiros. **Avaliação de microrganismos com potencial de degradação de diesel e biodiesel.** Dissertação da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Pós-graduação Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Porto Alegre – RS, 2010.

SILVA, Rita de Cassia Freire Soares. **Resíduos industriais como substratos alternativos para a produção de biossurfactantes para aplicação na remoção de poluentes ambientais gerados pela indústria de petróleo.** Dissertação da Universidade Católica de Pernambuco, Curso de Mestrado em Desenvolvimento de Processos Ambientais, Recife, 2012.

SILVA, A. P. M. da; BONO, J. A. M.; PEREIRA, F. de A. R. **Aplicação de vinhaça na cultura da cana-de-açúcar: Efeito no solo e na produtividade de colmos.** *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v.18, n.1, p. 38-43, 2014.

SILVA, R. C. F. S. **Resíduos industriais como substratos alternativos para a produção de biossurfactantes para aplicação na remoção de poluentes ambientais gerados pela indústria de petróleo.** Dissertação de Mestrado, Recife. Universidade Católica de Pernambuco: [s.n.], 2012, p.149.

SILVA, M. A. S. da; GRIEBELER, N. P.; BORGES, L. C. **Uso de vinhaça e impactos nas propriedades do solo e lençol freático.** Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, v. 11, n. 1, p. 108-114, 2007.

SINGH, A.; VAN HAMME, J. D.; WARD, O. P. **Surfactants in microbiology and biotechnology: Part 2. Application aspects.** Biotechnology Advances, v. 25, p. 99-121, 2007.

SOARES, Luma Claudio da Silva Rodrigues. **Destoxificação biológica do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar para utilização em processos fermentativos.** Dissertação da Escola de Engenharia de Lorena, da Universidade de São Paulo, 2012.

XIMENES, M. A. **A tecnologia Pós-Colheita e Qualidade Física Organoléptica do Café Arábica de Timor.** Dissertação do Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, 2010.