



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I - CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA INDUSTRIAL
CURSO DE GRADUAÇÃO EM QUÍMICA INDUSTRIAL**

ISAAC EMANUEL DUARTE DA SILVA

**PRODUÇÃO DE BIOSURFACTANTE E BIOEMULSIFICANTE POR
PENICILLIUM sp UTILIZANDO COMO SUBSTRATO CASCAS DE FRUTAS**

CAMPINA GRANDE

2023

ISAAC EMANUEL DUARTE DA SILVA

**PRODUÇÃO DE BIOSSURFACTANTE E BIOEMULSIFICANTE POR
PENICILLIUM sp UTILIZANDO COMO SUBSTRATO CASCAS DE FRUTAS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Departamento do Curso de Química da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Química Industrial.

Área de concentração: Biotecnologia

Orientador: Prof.^a Dr.^a Hέλvia Walewska Casullo de Araújo

CAMPINA GRANDE

2023

É expressamente proibido 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 do trabalho.

S586p Silva, Isaac Emanuel Duarte da.
Produção de biossurfactante e bioemulsificante por
Penicillium sp utilizando como substrato casca de frutas
[manuscrito] / Isaac Emanuel Duarte da Silva. - 2023.
44 p. : il. colorido.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química Industrial) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências e Tecnologia, 2023.

"Orientação : Profa. Dra. Hέλvia Walewska Casullo de Araújo, Coordenação do Curso de Química Industrial - CCT. "

1. Fermentação . 2. Resíduos agroindustriais . 3.
Biotecnologia. I. Título

21. ed. CDD 660

ISAAC EMANUEL DUARTE DA SILVA

PRODUÇÃO DE BIOSSURFACTANTE E BIOEMULSIFICANTE POR *PENICILLIUM*
sp UTILIZANDO COMO SUBSTRATO CASCAS DE FRUTAS

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Departamento do Curso
de Química da Universidade Estadual da
Paraíba, como requisito parcial à obtenção
do título de Bacharel em Química
Industrial.

Área de concentração: Biotecnologia.

Aprovada em: 29/06/2023.

BANCA EXAMINADORA

Hélvia W. Casullo de Araújo

Prof.^a Dr.^a Hélivia Walewska Casullo de Araújo (Orientadora)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

Carlos Christiano Lima dos Santos

Prof.^o Dr.^o Carlos Christiano Lima dos Santos
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

Pablícia Oliveira Galdino

Prof.^a Dr.^a Pablícia Oliveira Galdino
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

Aos meus pais, minhas irmãs e minha
noiva, por todo carinho, incentivo e
cuidado, DEDICO.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pelo discernimento e por ser fonte de toda força nos momentos da minha vida, e à Virgem Maria pelo cuidado e proteção em todas as ocasiões.

Aos meus pais, Gilson e Marizelda, por serem minha inspiração e pela garra em lutar pelo melhor para mim e para minhas irmãs. Agradeço por acreditarem no meu potencial e por sempre estarem ao meu lado me dando força e me motivando a ser melhor.

As minhas irmãs, Clara e Cecília, por todo carinho e amor, vocês são muito importantes para mim.

À minha noiva e companheira, Natália, por todo amor, força e paciência. Por não desistir de mim nos momentos difíceis, por sempre me apoiar e por ser um exemplo de garra e força. Obrigado por compartilhar todos os sonhos comigo, principalmente essa conquista.

À minha orientadora, Helvia Walewska Casullo, por todos ensinamentos e orientações como também a confiança em me proporcionar a participação no seu grupo de pesquisa, mostrando novos caminhos a serem explorados.

À minha colega, Sonally de Oliveira Lima, por toda ajuda e ensinamentos no desenvolvimento desta pesquisa. Obrigado por sempre ser solícita e atenciosa quando precisei.

A todos os professores do Centro de Ciências e Tecnologia do Curso de Química Industrial da Universidade Estadual da Paraíba, por toda contribuição, ensinamentos e experiências durante todos estes anos de curso.

Ao Núcleo de Pesquisas em Ciências Ambientais (NPCIAMB) da Universidade Católica de Pernambuco, pela contribuição ao ceder o fungo utilizado nos procedimentos experimentais.

Ao Núcleo de Pesquisa em Alimentos (NUPEA), pelo apoio e contribuição para que esta pesquisa pudesse ser desenvolvida.

O presente trabalho foi realizado com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

“Muitos pensam que ter talento é sorte;
não vem à mente de ninguém que a sorte
pode ser uma questão de talento”

Jacinto Benavente y Martínez

RESUMO

Os surfactantes e emulsificantes obtidos de forma sintética são amplamente utilizados, porém, são produzidos a partir do petróleo, podendo causar diversos danos ao ambiente. Por esse motivo, pesquisas em busca de biomoléculas surfactantes e emulsificantes vem aumentando. Portanto, esse trabalho teve como objetivo a realização de um estudo biotecnológico visando a produção de biosurfactante e bioemulsificante a partir de um processo de fermentação pelo fungo do gênero *Penicillium* sp. O local de desenvolvimento dos procedimentos experimentais foi o Laboratório do NUPEA do Centro de Ciências e Tecnologia localizado no Campus I da Universidade Estadual da Paraíba. A produção dos biosurfactantes e bioemulsificantes foi realizada por fermentação submersa, tendo como substratos caldos obtidos a partir das cascas do abacaxi (*Ananas comosus*) e do abacate (*Persea americana*), óleo pós-fritura e óleo queimado de motor. A fermentação foi feita em frascos de Erlenmeyer contendo o extrato das cascas de uma das frutas, o óleo pós-fritura ou óleo queimado de motor e glicose, sendo esta mistura mantida a 28 °C durante 115h, sob agitação de 150 rpm. Os biosurfactantes e bioemulsificantes foram avaliados através de testes de tensão superficial, índice de emulsificação, dispersão óleo em água e estabilidade do bioemulsificante. Os resultados encontrados demonstram que a produção dos biosurfactantes e bioemulsificantes foi promissora, tendo os valores de tensão superficial dos líquidos metabólicos variado entre 47,50–69,87 mN/m. Quanto ao índice de emulsificação (%), observou-se que a emulsificação do óleo de soja foi a que apresentou valores mais baixos, variando entre 16-20,83%, porém, a emulsificação do óleo queimado de motor apresentou valores promissores na faixa de 75,86-93,10%. Além disso, após a determinação da altura da emulsão contendo o óleo queimado de motor em diferentes intervalos de tempo, observou-se uma alta estabilidade da emulsão. Os resultados do teste de dispersão também foram promissores, visto que a zona de dispersão apresentou uma área de aproximadamente 70 mm. Portanto, todos os resultados demonstram o potencial do *Penicillium* sp. na produção de biosurfactantes e bioemulsificantes a partir das cascas do abacaxi e do abacate, do óleo pós-fritura e do óleo de motor queimado.

Palavras-chave: fermentação; resíduos agroindustriais; biotecnologia.

ABSTRACT

Surfactants and emulsifiers obtained synthetically are widely used, however, they are produced from petroleum and can cause various damages to the environment. For this reason, research in search of surfactant and emulsifier biomolecules has been increasing. Therefore, this work aimed to carry out a biotechnological study aimed at the production of biosurfactant and bioemulsifier from a fermentation process by the fungus of the genus *Penicillium* sp. The place where the experimental procedures were developed was the NUPEA Laboratory of the Science and Technology Center located on Campus I of the State University of Paraíba. The production of biosurfactants and bioemulsifiers was carried out by submerged fermentation, using broth obtained from pineapple (*Ananas comosus*) and avocado (*Persea americana*) skins, post-frying oil and burnt engine oil as substrates. Fermentation was carried out in Erlenmeyer flasks containing the extract of the peel of one of the fruits, the post-frying oil or burnt engine oil and glucose, this mixture being maintained at 28 °C for 115 hours, under agitation at 150 rpm. The biosurfactants and bioemulsifiers were evaluated through surface tension, emulsification index, oil-in-water dispersion and bioemulsifier stability tests. The results show that the production of biosurfactants and bioemulsifiers was promising, with surface tension values of metabolic fluids varying between 47.50–69.87 mN/m. As for the emulsification index (%), it was observed that the soybean oil emulsification was the one that presented the lowest values, varying between 16-20.83%, however, the burnt motor oil emulsification presented promising values in the range from 75.86 to 93.10%. Furthermore, after determining the height of the emulsion containing burnt engine oil at different time intervals, a high stability of the emulsion was observed. The results of the dispersion test were also promising, as the dispersion zone had an area of approximately 70 mm. Therefore, all results demonstrate the potential of *Penicillium* sp. in the production of biosurfactants and bioemulsifiers from pineapple and avocado peels, post-frying oil and burnt engine oil.

Keywords: fermentation; agroindustrial waste; biotechnology.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Estrutura geral dos surfactantes	14
Figura 2 -	Exemplos de matérias primas, tipos de tensoativos e utilização de acordo com sua classificação a partir da polaridade	15
Figura 3 -	Variação da tensão superficial, interfacial e solubilidade em função da concentração do surfactante	16
Figura 4 -	a: Representação das emulsões mais comuns. Simples: 1 - emulsão óleo/água (O/A), 2 - emulsões água/óleo (A/O), Múltiplas: 3- emulsão água/óleo/água (A/O/A), 4 - emulsão óleo/água/óleo (O/A/O), b: Interação da molécula com os meios polares e apolares.	19
Figura 5 -	Morfologia representativa do Gênero <i>Penicillium</i> sp	21
Figura 6 -	<i>Penicillium</i> sp	22
Figura 7 -	Cascas das frutas utilizadas	27
Figura 8 -	Frascos de Erlenmeyer contendo os substratos e o <i>Penicillium</i> sp. no processo de fermentação	28
Figura 9 -	Equação da Lei de Tate	29
Figura 10 -	Fórmula de determinação de emulsão	30
Figura 11 -	Representação gráfica da variação da tensão superficial em função dos diferentes substratos utilizados no processo de fermentação.....	32
Figura 12 -	Representação gráfica da variação dos índices de emulsificação em função dos substratos utilizados para a fermentação	34
Figura 13 -	Emulsificação do óleo queimado de motor através dos bioemulsificantes produzidos a partir dos diferentes substratos utilizados.....	35
Figura 14 -	Altura das emulsões contendo o óleo queimado de motor após 24h..	36
Figura 15 -	Resultado do teste de dispersão do óleo queimado de motor utilizando o líquido metabólico proveniente do sistema de fermentação casca de abacaxi + óleo pós-fritura	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Teor de nutrientes da casca do abacaxi e do abacate	24
Tabela 2 - Tensão superficial obtida após a fermentação de 115h	31
Tabela 3 - Valores dos índices de emulsificação obtidos	33
Tabela 4 - Valores de pH antes e após a fermentação submersa	37

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	OBJETIVOS	13
2.1	Objetivo geral	13
2.2	Objetivos específicos	13
3	REFERENCIAL TEÓRICO	14
3.1	Surfactantes	14
3.1.1	<i>Biossurfactantes</i>	16
3.2	Emulsificantes	18
3.2.1	<i>Bioemulsificantes</i>	19
3.3	Fungos	20
3.3.1	<i>Fungos filamentosos e Penicillium sp.</i>	21
3.4	Resíduos agroindustriais	22
3.4.1	<i>Abacaxi (Ananas comosus)</i>	23
3.4.2	<i>Abacate (Persea americana)</i>	24
3.4.3	<i>Óleo de soja pós fritura</i>	25
4	METODOLOGIA	26
4.1	Local de desenvolvimento	26
4.2	Manutenção do microrganismo	26
4.3	Substratos utilizados	26
4.4	Preparo dos substratos	27
4.5	Produção do biossurfactante/bioemulsificante	27
4.6	Determinação do pH	29
4.7	Avaliação da tensão superficial	29
4.8	Avaliação do índice de emulsificação (IE)	29
4.9	Teste de dispersão	30
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
5.1	Produção do biossurfactante	31
5.2	Produção do bioemulsificante	33
5.3	Teste de dispersão	36
6	CONCLUSÃO	38
	REFERÊNCIAS	39

1 INTRODUÇÃO

Tensoativos ou surfactantes são moléculas orgânicas que possuem características anfipáticas, e que em sua estrutura apresentam uma porção polar e outra apolar. Devido ao seu caráter anfifílico, quando adicionados a um solvente polar se acumulam na superfície do solvente. Essas moléculas de surfactantes presentes na superfície diminuem a força de coesão entre as moléculas do solvente, reduzindo assim a tensão superficial. (FELIPE; DIAS, 2017)

Existem diversas aplicações dos surfactantes sintéticos em diferentes processos industriais, domésticos e biológicos, tendo funções de emulsificante, agente molhante ou de suspensão, dispersão de fases e lubrificantes. Porém, a longo prazo, a utilização de surfactantes sintéticos provoca danos ambientais associados à sua produção e ao seu descarte, como a morte de microrganismos, peixes e plantas aquáticas. (BEHRING, 2004; DALTIM, 2011; OLKOWSKA *et al.*, 2014)

Sendo assim, na procura por novas moléculas surfactantes que não desencadeassem danos ao ambiente, observou-se que microrganismos como fungos e bactérias detinham a capacidade de sintetizar compostos com ações semelhantes aos surfactantes sintéticos. Esses compostos são chamados de biossurfactantes e bioemulsificantes, e apresentam características tensoativas, ou seja, assim como os sintéticos, tem o potencial de baixar a tensão superficial de líquidos devido suas semelhanças estruturais. (SANTOS; SILVA; COSTA, 2016; UZOIGES *et al.*, 2015)

Os biossurfactantes e bioemulsificantes apresentam vantagem quando relacionados aos surfactantes sintéticos como a biodegradabilidade e baixa toxicidade. Além disso, podem ser produzidos a partir da fermentação por microrganismos de resíduos agroindustriais, o que é um ponto importante do ponto de vista econômico e ambiental. Para que essa produção seja possível, é necessário que o resíduo agroindustrial seja uma boa fonte de nutrientes para os fungos e bactérias responsáveis pela síntese, exemplos de substratos ricos nesses nutrientes são as cascas de frutas e legumes, além de óleos pós-fritura. (DA SILVA *et al.*, 2020; PINTO, 2008)

O processo fermentativo submerso tem como principal característica a utilização de um meio de cultura líquido, com nutrientes solúveis, tornando-se assim uma metodologia de escolha para a produção de biossurfactantes e bioemulsificantes a partir de resíduos agroindustriais. Além disso, apresenta facilidade de cultivo em

maior quantidade por garantir homogeneidade do meio e facilidade no controle de parâmetros do processo, como agitação, pH, tempo e temperatura. (ALONSO, 2001; COUTO; SANROMÁN, 2006)

Nesta perspectiva, é de extrema importância a pesquisa de novos substratos biodegradáveis para a produção de biossurfactantes e bioemulsificantes, buscando a avaliação da influência desses compostos na tensão superficial e visando obter vantagens econômicas e ambientais como resultado desses processos.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Investigar a produção de biossurfactantes/bioemulsificante pelo fungo *Penicillium* sp utilizando diferentes descartes agroindustriais como meio de baixo custo.

2.2 Objetivos específicos

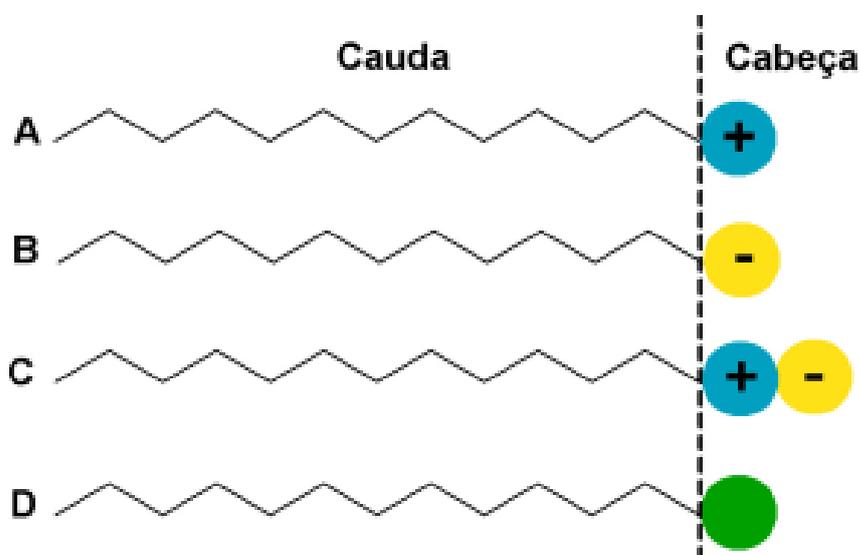
- Realizar a produção do biossurfactante/bioemulsificante por *Penicillium* sp utilizando como substratos rejeitos de cascas do abacaxi (*Ananas comosus*) e do abacate (*Persea americana*), óleos vegetais pós-fritura e óleo queimado de motor.
- Produzir biossurfactante/bioemulsificante por fermentação em agitação.
- Avaliar a eficiência do biossurfactante/bioemulsificante através dos parâmetros de tensão superficial, índice de emulsão e teste de dispersão.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Surfactantes

Surfactantes ou tensoativos sintéticos são substâncias derivadas do petróleo produzidos por rotas químicas. São aglomerados moleculares automontados denominados de micelas em uma solução (fase aquosa ou oleosa), se dissolvendo em interfaces de soluções e uma fase diferente (gases ou sólidos). São compostos orgânicos anfipáticos ou anfifílicos que apresentam duas características na molécula, sendo elas uma parte polar e outra apolar (hidrofílica e hidrofóbica). A porção polar (cabeça), pode ser caracterizada por grupos iônicos (catiônicos ou aniônicos), anfóteros ou não iônicos, já a porção apolar (cauda), é constituída por uma ou duas cadeias carbônicas, ou fluoro carbônicas, ou siloxânicas. Essas substâncias apresentam comportamentos diferentes de acordo com o pH e podem classificadas a partir da porção hidrofílica da estrutura, como mostrado na Figura 1. (DIAS, 2017; NAKAMA, 2017)

Figura 1 - Estrutura geral dos surfactantes (A: surfactantes catiônicos, B: surfactantes aniônicos, C: surfactantes anfóteros, D: surfactantes não iônicos)

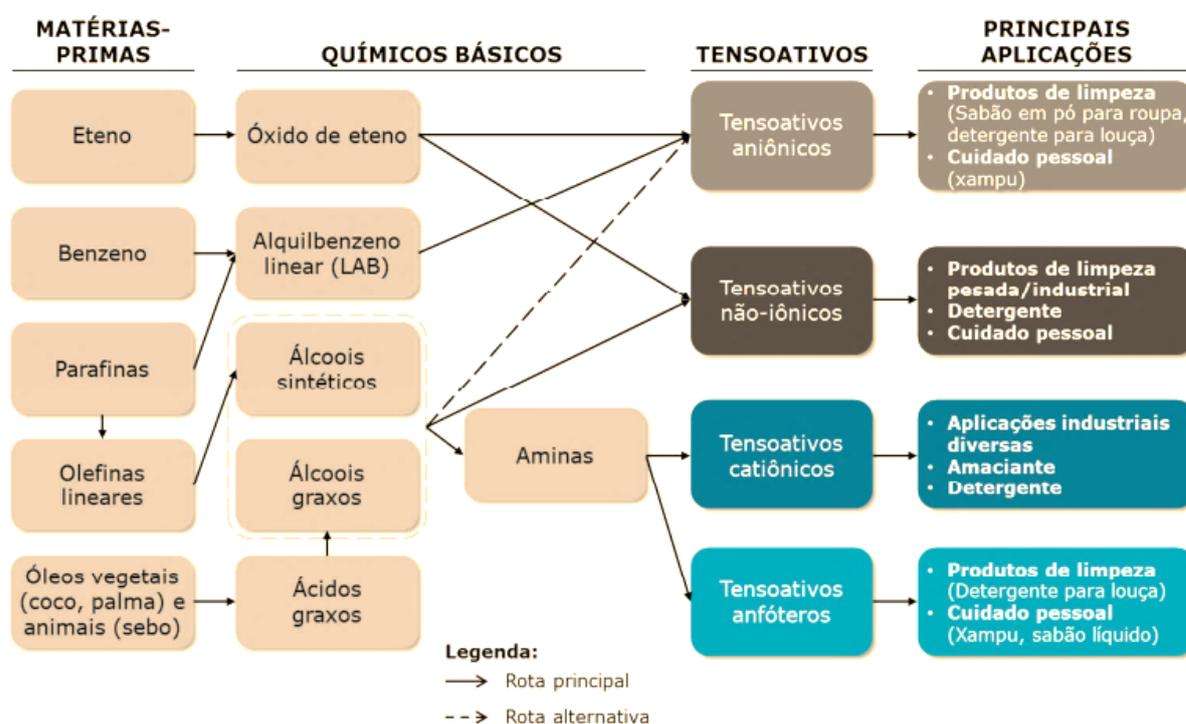


Fonte: FELIPE; DIAS (2017, p. 228).

Como citado anteriormente, os surfactantes sintéticos são derivados de fontes petroquímicas ou oleoquímicas, isso se dá a partir de diferentes matérias prima,

resultando em moléculas com diferentes estruturas químicas, principalmente quando relacionado a porção hidrofílica da molécula. Os surfactantes apresentam diferentes aplicações nos setores da indústria, como produtos de limpeza doméstica ou industrial, higiene pessoal, cosméticos, agroquímicos, tintas e adesivos, entre outros. A Figura 2 demonstra alguns tipos de matérias-primas que dão origem a esses tensoativos, assim como a aplicação destes em diferentes áreas. (BRAIN & COMPANY; GAS ENERGY, 2014)

Figura 2 - Exemplos de matérias primas, tipos de tensoativos e utilização de acordo com sua classificação a partir da polaridade



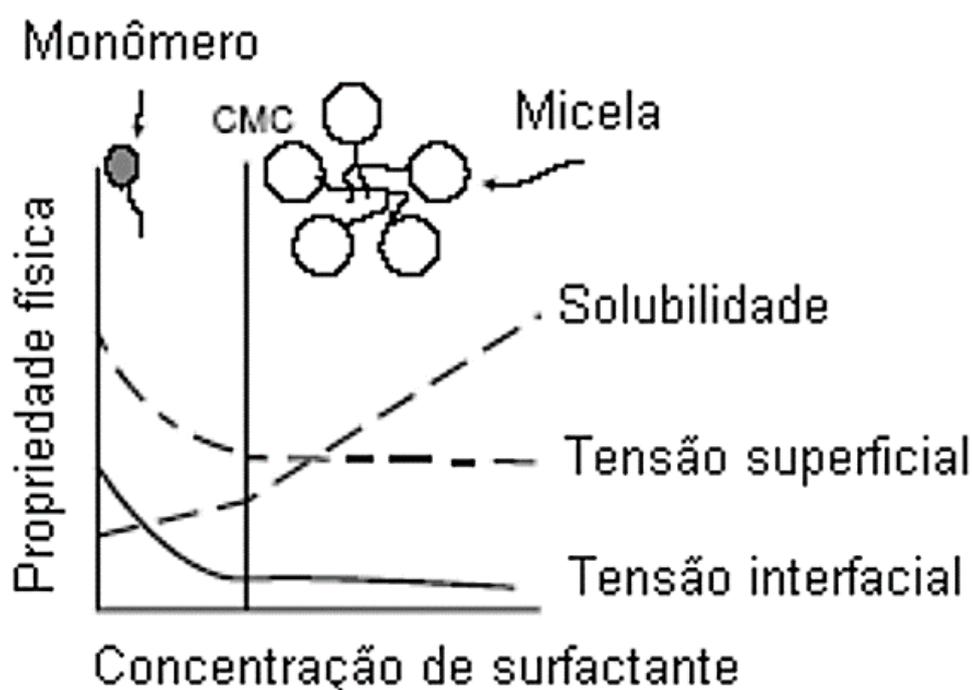
Fonte: BRAIN & COMPANY; GAS ENERGY (2014, p. 6).

Das principais características existentes nos surfactantes, a mais importante e mais utilizada na diferenciação é a de redução da tensão superficial e interfacial do meio em que são aplicados. (RAUTELA; CAMEOTRA, 2014)

O fator responsável para diminuição da tensão superficial é quando a concentração de surfactantes no meio aquoso aumenta, com isto ocorre a formação de micelas. As micelas são estruturas constituídas por moléculas anfipáticas agregadas com as suas porções hidrofílicas voltadas para a parte interna. A partir desse processo de formação de micelas pode-se conhecer então a Concentração

Micelar Crítica (CMC). A CMC é a concentração mínima onde ocorre a formação de micelas de um surfactante, ou seja, a partir dela pode-se observar a concentração de surfactantes necessária para que a tensão superficial seja reduzida ao máximo como mostrado na Figura 3. A CMC é uma grandeza de bastante importância no estudo de surfactantes, pois a partir dela pode-se definir a capacidade que um surfactante apresenta de diminuir a tensão superficial entre dois componentes. (RUFINO *et al.*, 2008; TURCHI; KARCZ; ANDERSSON, 2022)

Figura 3 - Variação da tensão superficial, interfacial e solubilidade em função da concentração do surfactante.



Fonte: MULLIGAN; YOUNG; GIBBS (2001)

3.1.1 Biossurfactantes

Os biossurfactantes são substâncias caracterizadas por sua origem microbiana e suas substâncias bioativas, sendo constituídos quimicamente por uma porção hidrofóbica, sendo ela de hidrocarbonetos, ácidos graxos de cadeia longa e entre outros e por uma porção hidrofílica, constituída de carboidratos, ácido carboxílico, álcool, fosfato ou um peptídeo cíclico. Podem ser classificados ainda como catiônico, aniônico, não iônico e anfótero, devido sua estrutura e características serem

semelhantes aos surfactantes sintéticos. (ZHAO; SELVAM; WONG, 2011; SILVA, 2014; NITSCHKE; PASTORE, 2002; SANTOS *et al*, 2021)

Em diferença com os surfactantes sintéticos a principal característica do biossurfactante está ligada ao seu peso molecular. De forma geral os biossurfactantes apresentam baixo peso molecular podendo ser explicado pela estrutura dos glicolípídios, lipopeptídeos e fosfolípídios. São formados principalmente por microrganismos podendo ser de originado de fungos, bactérias e leveduras. O desenvolvimento e obtenção dos biossurfactantes pode se dá através da presença desses microrganismos em conjunto com uma fonte de carbono e nitrogênio proveniente do substrato escolhido, que tenha boas concentrações de micronutrientes. (PACWA-PLOCINICZAK *et al*, 2011; EHRHARDT; SECATO; TAMBOUGI, 2014; BANAT, 1995; FARIA, 2010).

Essas moléculas causam a diminuição da tensão superficial, assim aumentando a área de contato de compostos insolúveis (polaridades diferentes), como exemplo de hidrocarbonetos em meio polar atuando em fluidos com diferentes polaridades. Há, portanto, a possibilidade misturas O/A e A/O, quando na presença de biossurfactantes, isso ocorre pelo fato destas moléculas apresentarem uma boa CMC, visto que quanto maior a CMC, maior a capacidade do surfactante diminuir a tensão superficial entre dois componentes insolúveis, possibilitando assim uma melhor solubilidade. Os biossurfactantes são ecologicamente corretos por serem produtos naturais, oferecendo benefícios como, toxicidade reduzida, biodegradabilidade, solubilização de hidrocarbonetos, estabilidade térmica e mudança de pH, tem ação antibacteriana, antifúngica e antiviral. Todas essas características culminam para a possibilidade da utilização destas moléculas em várias áreas da indústria, como petroquímica, cosméticos, na agricultura para constituição de herbicidas, fabricação de itens de higiene pessoal, detergentes, papéis, e a indústria alimentícia, para biorremediação. (DIAS *et al.*, 2018; MARINHO; SILVA; LUNA, 2022; BARROS *et al.*, 2007; LIMA, 2007; NISTCHKE; PASTORE, 2013; SILVA, 2014; VECINO *et al.*, 2015; LAWNICZAK *et al.*. 2013).

Em contra partida do grande potencial dos biossurfactantes, sua aplicação ainda é um processo limitado pelo fato de apresentarem custo elevado de produção quando comparados com surfactantes sintéticos. Isso se dá pela não existência de processos de produção em larga escala devido à grande variabilidade de microrganismos e substratos existentes. As dificuldades relacionadas aos substratos

são explicadas pelo impasse na seleção desses compostos alternativos, ou seja, na busca da melhor composição que favoreça as fontes necessárias para o crescimento celular para o produto de interesse. Existem também outras variáveis, sendo uma delas as possíveis contaminações dos próprios microrganismos do produto em um processo de produção, dificultando também o desenvolvimento de um processo de produção em larga escala. (KRIEGER; CAMILIOS; MITCHELL, 2010; MARINHO; SILVA; LUNA, 2022; ROSSMANN, 2008)

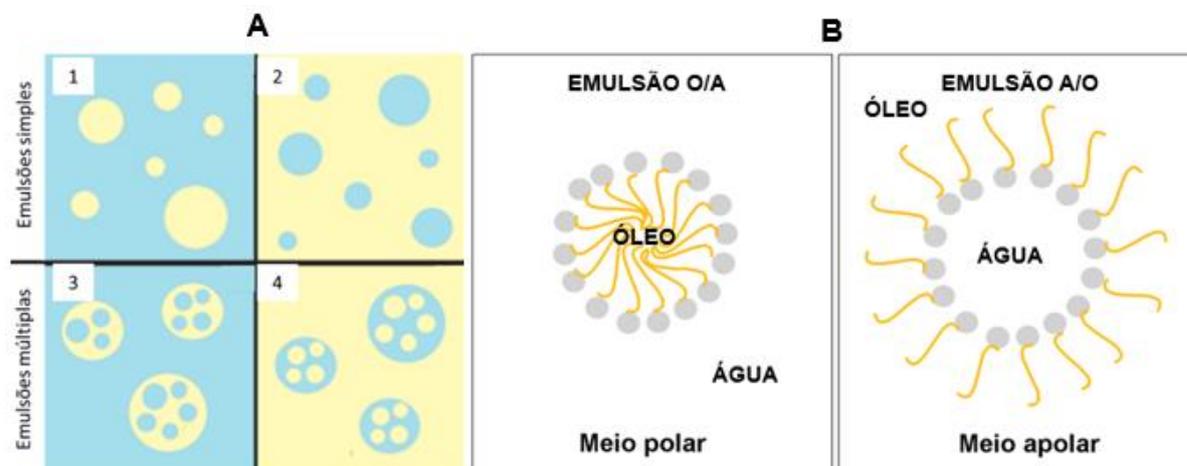
3.2 Emulsificantes

Os emulsificantes são bem semelhantes aos surfactantes, desde a sua rota de derivação até a sua estrutura, a exemplo disso, a sua estrutura dos emulsificantes possui a mesma característica da estrutura dos surfactantes, tendo uma parte polar e outra apolar, ou seja, uma parte lipofílicas e hidrofílicas. (FERREIRA, 2019)

A utilização dos emulsificantes pode dá origem a emulsões. Emulsão é definida como a mistura de dois líquidos imiscíveis, sendo um deles disperso em glóbulos (fase dispersa) e outro líquido (fase contínua), gerando então a emulsão de um sistema heterogêneo, ou seja, um líquido imiscível completamente difuso em outro. (HILL, 1996; LIMA *et al.*, 2008)

As emulsões podem ser classificadas de acordo com a fase e contínua, sendo classificada como: emulsão água em óleo (A/O), na qual a fase dispersa é água e a fase contínua o óleo; emulsão óleo em água (O/A), quando a água é a fase contínua e óleo a fase dispersa. Também pode haver a possibilidade de formação de emulsões múltiplas em que se classificam como: emulsão A/O/A, quando uma gotícula de óleo contém uma ou mais gotículas de água estando em suspensão em uma fase aquosa; e emulsão O/A/O. Isso é possível pois cada parte polar e apolar da molécula emulsificante atrai seus semelhantes químicos no sistema, possibilitando uma mistura entre dois líquidos imiscíveis, como exemplificado nas Figuras 4a e 4b. (PEGADO *et al.*, 2003; ZANON, 2010)

Figura 4 – a: Representação das emulsões mais comuns. Simples: 1 - emulsão óleo/água (O/A), 2 - emulsões água/óleo (A/O), Múltiplas: 3- emulsão água/óleo/água (A/O/A), 4 - emulsão óleo/água/óleo (O/A/O), **b:** Interação da molécula com os meios polares e apolares.



Fonte: Adaptado de BOUYER et al, (2012); FELIPE; DIAS (2017).

Como já falado anteriormente, um emulsificante é aquele que tem como principal função de reduzir a tensão interfacial e atua como agente estabilizante para a emulsão. Na grande maioria das vezes os agentes emulsionantes de natureza hidrofílica favorecem a formação de emulsões O/A, já as de natureza lipofílica favorecem a formação de emulsão A/O. Para ser um emulsificante de qualidade o mesmo deve manter a estabilidade durante a validade do produto/processo em que está sendo usado, deve ser estável a degradação química, inerte, não tóxico, realizar a penas a emulsão e não reagir quimicamente com o meio e depender da sua utilização. Deve também ter suas características organolépticas pouco detectáveis como: cor, sabor e cheiro. (ZANON, 2010)

3.2.1 Bioemulsificantes

Os Bioemulsificantes são substâncias com maior peso molecular em relação aos biossurfactantes, pois são provenientes de misturas mais complexas de proteínas, lipoproteínas, heteropolissacarídeos e lipopolissacarídeos e misturas complexas com biopolímeros. Conhecidos como biopolímeros de alto peso molecular ou exopolissacarídeos, podem ser assemelhados aos biossurfactantes, porém, a características desta substância é de emulsificar dois líquidos imiscíveis como

hidrocarbonetos ou outras substâncias hidrofóbicas mesmo em baixas concentrações. Entretanto, são menos eficientes na redução da tensão superficial, diferentemente dos biossurfactantes. Com isto pode-se afirmar que os bioemulsificantes possuem apenas atividade emulsificantes e não atividade de superfície capaz de diminuir a tensão de do meio, por outro lado possuem capacidade de solubilização de substratos poucos solúveis, assim aumentando seu acesso e disponibilidade para biodegradação. (SEKHON-RANDHAWA, 2014; WILLUMSEN; KARLSON, 1997).

Uma das principais características do bioemulsificantes é a estabilização das emulsões aumentando a sua estabilidade cinética, por este motivo e por apresentar a biodegradabilidade, baixa toxicidade, resistência a alteração de temperatura, pH e salinidade os bioemulsificantes estão sendo usados em vários ramos e etapas da indústria de alimentos, farmacêutica, cosmética e de petróleo. (CARRERO *et al.*, 2011; WILLUMSEN; KARLSON, 1997; UZOIGWE *et al.*, 2015)

3.3 Fungos

Os fungos estão inclusos no grupo dos organismos mais diversos da Terra, sendo conhecidas cerca de 130 mil espécies em um total estimado de mais de 1,5 milhões. Os fungos conhecidos correspondem apenas 8% de todas espécies existentes, isso leva a crer que os fungos são um dos grupos de seres vivos com diversidade menos conhecida. (LIMA, 2015)

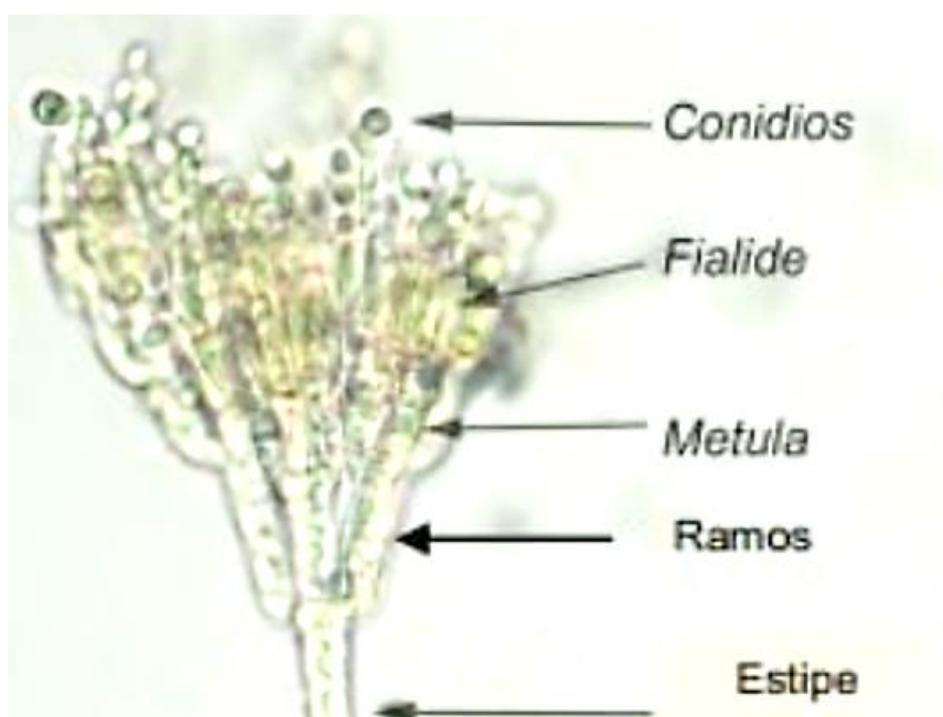
São organismos eucarióticos, quimioheterotróficos, que apresentam nutrição absorptiva com digestão extracorpórea parcial, sendo fermentadores facultativos ou aeróbicos, e tem como característica sua estrutura corpórea pluricelular micelial, no caso dos fungos filamentosos ou unicelular leveduriforme, no caso das leveduras. Sua parede plasmática é constituída por proteínas, quitina, glicanos e o ergosterol como principal esterol da membrana plasmática. (MORAES; PAES; HOLANDA, 2010)

Tendo como função natural a composição de compostos orgânicos, os mesmos estão sendo muito utilizados nas indústrias de alimentos, farmacêutica, ração animal, química (biossurfactantes, detergentes e polímeros), produção de biocombustível, indústria têxtil, mas também são responsáveis por causar doenças em plantas, animais, insetos e até no homem (KENDRICK, 2011; FREITAS, 2022)

3.3.1 Fungo filamentososo e *Penicillium* sp

Fungos filamentosos são formados por estruturas com filamentos de fragmentação de suas hifas e micélios com função de esporulação por meio dos seus esporos, possuem reprodução sexuada sendo o estado sexual teleomorfo e assexuada o estado sexual anamorfo. Sua morfologia pode ser observada na Figura 5. (MORAES; PAES; HOLANDA, 2010)

Figura 5 - Morfologia representativa do Gênero *Penicillium* sp.



Fonte: MONTEIRO (2012)

Os fungos filamentosos *Penicillium* (Figura 6) são poucos exigentes nutricionalmente e toleram diversas condições físico-químicas, sendo adaptados aos mais variados tipos de habitat, com isto é encontrado nos mais diversos locais, como ar, solo em ambientes internos e alimentos. Este microrganismo vem sendo utilizado na produção de medicamento como a penicilina, enzimas e em alimentos fermentados como também no desenvolvimento de bioprodutos. (LIMA, 2015; GOMES, 2011)

Os fungos deste gênero são conhecidos pela capacidade de produção de uma grande variedade de metabólitos secundários biológicos ativos a exemplo de peptídeos, terpenóides e enzimas extracelulares, sempre apresentando grandes resultados biotecnológicos sendo eles bastante utilizados em biocontrole, fontes de

enzimas, utilização de bioprodutos, e entre outras aplicações para os seus metabolitos secundários na indústria. (SEMEPRE; SANTAMARINA, 2010)

Figura 6 - *Penicillium* sp.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

3.4 Resíduos agroindustriais

O processamento de frutas em indústrias em torno do mundo gera milhões de toneladas de resíduos agroindustriais ao longo da sua cadeia produtiva, a exemplo disto tem-se que no processamento de frutas para produção de polpa de frutas é gerado cerca de 30 a 40% de resíduos, sendo que os mesmos são ricos em compostos bioativos ricos em vitaminas, minerais, fibras, compostos antioxidantes e nutrientes em geral (SENA; NUNES, 2006; MAKRIS, BOSKOU; ANDRIKOPOULOS, 2007; BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006; MENEZES, DURRANT, 2008).

De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), a produção de frutas no Brasil foi cerca de 40 milhões de toneladas em 2018, estando no ranking das maiores produções mundiais de frutas ficando atrás apenas da China e Índia. (IBGE, 2019)

Pelo fato de os resíduos agroindustriais serem grandes fontes de bioativos e nutrientes e cerca de 50% do custo final, estes resíduos são importantes candidatos como substratos na produção dos biossurfactantes, dispensando assim substratos de alto custo, a fim de viabilizar economicamente o processo produtivo. Portanto, os resíduos agroindustriais de frutas são uma ótima escolha como fonte de substrato e nutrientes para o processamento e desenvolvimento de bioativos. Além da questão econômica, existe também a alternativa para um melhor aproveitamento dos resíduos visando cada vez mais o seu total aproveitamento e menos descarte. (CASTIOGLIONE; BERTOLIN; COSTA, 2009; MAKKAR; CAMEOTRA; BANAT, 2011)

3.4.1 Abacaxi (*Ananas comosus*)

O abacaxi é uma fruta de clima subtropical e tropical sendo consumido em todo o mundo tanto na forma *in natura* quanto na forma de produtos industrializados. Sua produção no ano de 2018 foi cerca de 2,65 milhões de toneladas, sendo bastante industrializado na região norte do Brasil e gerando cerca de 40 a 60% do seu peso total de resíduo. (FAOSTAT, 2018; ERKEL *et al.*, 2015)

Segundo Lima *et al.* (2010), o uso do abacaxi (*Ananas comosus*) para produção caldo do mesmo, apresenta resultados promissores como fonte de nitrogênio e outros micronutrientes para desenvolvimento de biossurfactante e bioemulsificantes dentro dos padrões com o uso da bactéria *Pseudomonas fluorescens*. Além disso, de acordo com Santos (2018), a casca do abacaxi apresenta um teor de carbono de aproximadamente 40,87% em sua constituição. Isso corrobora para a justificativa do aumento de pesquisas para a utilização dos resíduos da casca do abacaxi na produção de biossurfactantes e bioemulsificantes utilizando a fermentação por diferentes microrganismos.

Na Tabela 1 a seguir é apresentado o teor de nutrientes (composição centesimal) da casca do abacaxi *in natura*.

Tabela 1 - Teor de nutrientes da casca do abacaxi e do abacate

Parâmetros	100 g de amostra	100 g de amostra
	Abacaxi <i>in natura</i>	Abacate <i>in natura</i>
Umidade (g)	78,13	76,95
Cinzas (g)	1,03	0,75
Lipídeos (g)	0,55	11,04
Proteínas (g)	1,45	1,51
Fibras (g)	3,89	6,85
Carboidratos (g)	14,95	2,90
Calorias (Kcal)	70,55	117,02
Calorias (Kcal)	76,44	123,94
Ferro (mg)	0,71	2,18
Sódio (mg)	62,63	76,75
Magnésio (mg)	26,79	26,24
Zinco (mg)	0,45	1,24
Cobre (mg)	0,11	0,18
Potássio (mg)	285,87	236,70

Fonte: GONDIM *et al.* (2005)

3.4.2 Abacate (*Persea americana*)

O abacate (*Persea americana*) é uma fruta originária do México e da América Central, e apresenta uma riqueza de nutrientes como proteínas, lipídios, vitaminas e minerais. Porém, assim como em várias frutas, após a utilização da polpa a casca do abacate é descartada acarretando a formação de resíduos o que gera problemas como falta de espaço físico para decomposição e custos maiores envolvendo o gerenciamento dos resíduos urbanos. (CUNHA *et al.*, 2014)

Os resíduos do abacate, casca e semente, ainda são pouco explorados cientificamente quanto ao seu potencial nutritivo e funcional. As cascas apresentam altos teores de minerais como potássio, nitrogênio, magnésio, cálcio, ferro, zinco e cobre, além de ser fonte de lipídios, fibras e compostos fenólicos (Tabela 1). (DAIUTO *et al.*, 2014) Por apresentar todos esses componentes em quantidades importantes, a casca do abacate pode ser definida como uma possível fonte nutricional para microrganismos no processo de fermentação para geração de bioemulsificantes/biosurfactantes.

3.4.3 Óleo de soja pós fritura

O óleo de soja é uma fonte de carbono composta por gordura instaura (6%), ácidos graxos poli-insaturados (25%), monoinsaturados, (15%) e saturados (15%). A produção mundial de óleos e gorduras é de aproximadamente 2,5 a 3 milhões/ano, sendo 75% desse valor derivados de plantas. Várias indústrias de alimentos fazem uso de gorduras e óleos, o que gera grandes quantidades de resíduos hidrofóbicos. Após a sua utilização na indústria alimentícia, o óleo de soja sofre alterações físico-químicas sendo necessário descartá-lo, visto que a utilização deste pode causar diversos danos a saúde como aterosclerose e desencadear uma ação mutagênica. (ASSUNÇÃO; GUIMARÃES, 2014; MAKKAR; CAMEOTRA, 2002)

O tratamento desses resíduos demanda altos custos, porém, o óleo residual gerado contém nutrientes, essas duas características contribuem para que o óleo de soja pós-fritura seja uma matéria-prima de baixo custo na produção de biossurfactantes e bioemulsificantes (BANAT *et al.*, 2010; MAKKAR *et al.*, 2011)

4 METODOLOGIA

4.1 Local de desenvolvimento

As etapas do procedimento experimental foram realizadas no Núcleo de Pesquisa e Extensão em Alimento (NUPEA) da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB) – Campus I, na cidade de Campina Grande, Paraíba, em parceria com o Laboratório de Núcleo de Pesquisa em Ciências Ambientais (NPCIAMB) da Universidade Católica de Pesquisa em Ciências Ambientais de Pernambuco (UNICAP). Estes procedimentos foram padronizados através da utilização dos mesmos equipamentos e vidrarias.

4.2 Manutenção do microrganismo

O *Penicillium* sp isolado do solo do semi-árido de Pernambuco foi mantido no banco de Cultura do Núcleo de Pesquisas em Ciências Ambientais (NPCIAMB) da Universidade Católica de Pernambuco, registrada no World Federation Culture Collection- WFCC.

A manutenção das culturas se deu em meio Ágar Sabouraud em uma temperatura de 5 °C. Além disso foram realizados repiques em períodos de no máximo uma semana a fim de manter o microrganismo sem contaminações e possíveis alterações.

4.3 Substratos utilizados

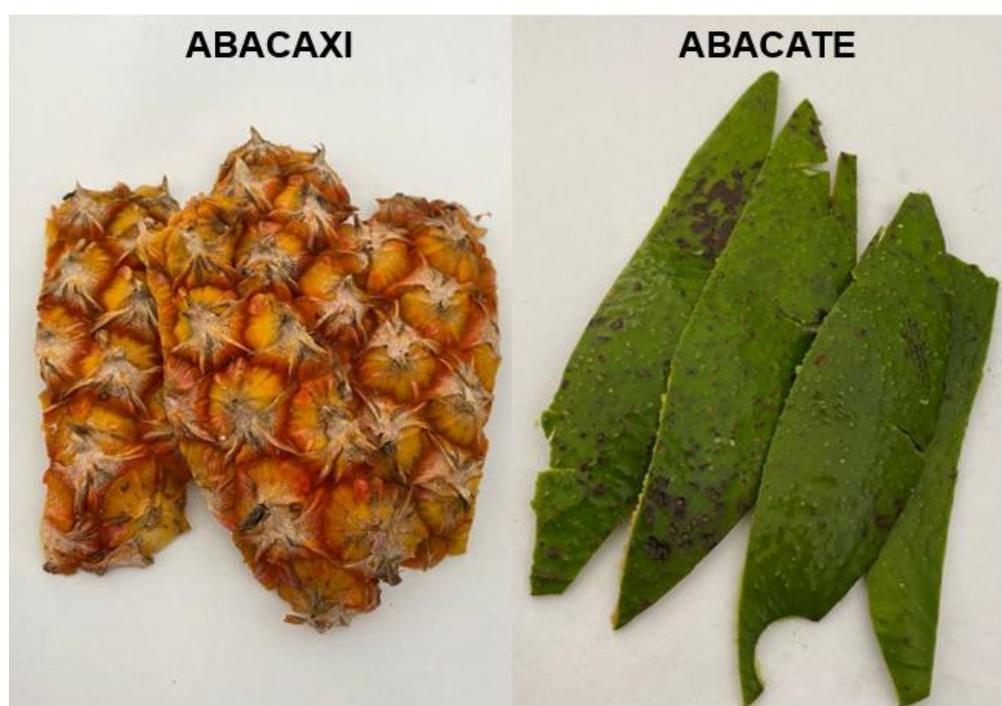
Para a formulação dos meios de produção foram utilizados resíduos agroindustriais, sendo eles descartes de cascas de frutas, e além desses resíduos, utilizou-se também óleo pós-fritura e óleo queimado de motor. As cascas de frutas utilizadas nessa etapa experimental foram as do abacaxi (*Ananas comosus*) e do abacate (*Persea americana*) coletadas na cidade de Campina Grande – PB. Já o óleo pós-fritura foi coletado em estabelecimentos comerciais da cidade de Queimadas – PB. O óleo queimado de motor foi adquirido em oficinas de motocicletas da cidade de Esperança – PB.

4.4 Preparo dos substratos

As cascas das do abacaxi e do abacate (Figura 7) foram higienizadas e lavadas com água destilada. Logo após as cascas de cada fruta, separadamente, foram colocadas em um liquidificador de uso doméstico juntamente com água destilada na concentração de 200 g/L (1/4), e triturou-se essa mistura. Por fim, foi obtido um caldo aquoso, sendo este o substrato utilizado para o procedimento de fermentação.

O óleo pós-fritura e o óleo queimado de motor não passaram por nenhuma preparação prévia ao procedimento de fermentação.

Figura 7 – Cascas das frutas utilizadas



Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

4.5 Produção do biossurfactante/bioemulsificante

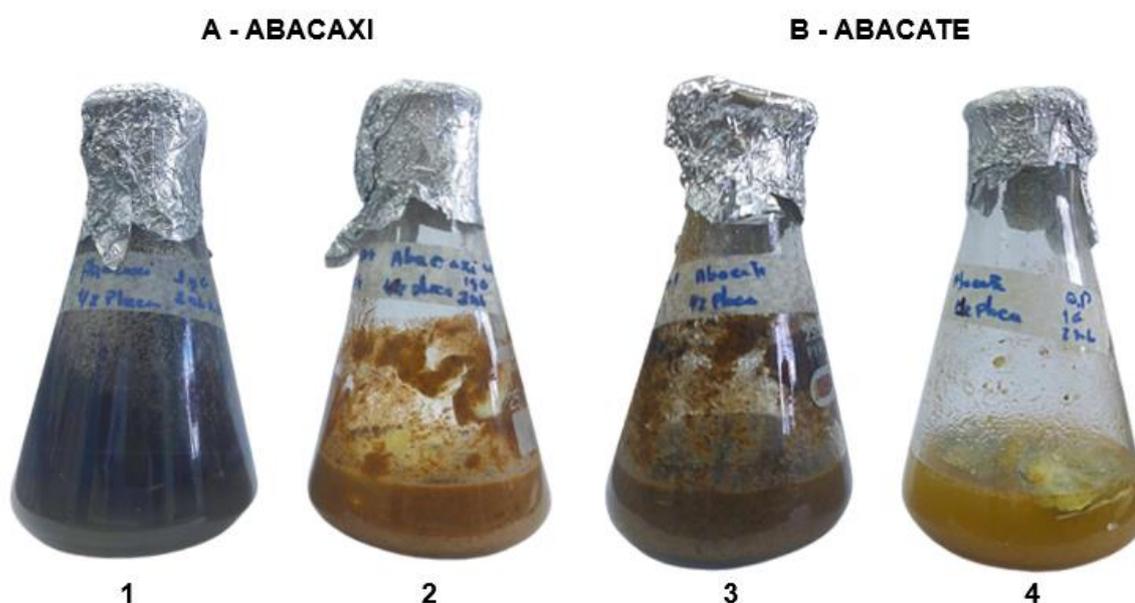
A produção de biossurfactante/bioemulsificante foi realizada por fermentação submersa em frascos de Erlenmeyer de 250 mL de capacidade. Nestes frascos foram adicionados 96 mL do extrato preparado por meio das cascas do abacaxi e do abacate, 1 g de glicose e 2 mL do óleo (pós-fritura e motor), totalizando o volume padrão de 100 mL. Para cada extrato das cascas das frutas foram preparadas misturas (100 mL) utilizando o óleo pós-fritura ou o óleo queimado de motor, ou seja,

ao obteve-se 4 misturas sendo elas: extrato da casca do abacaxi + óleo pós-fritura, extrato de abacaxi + óleo queimado de motor, extrato da casca do abacate + óleo pós-fritura, extrato da casca do abacate + óleo queimado de motor.

Os frascos de Erlenmeyer contendo todos os componentes (Figura 8) foram então levados para serem esterilizados em autoclave a uma temperatura de 121° C por 15 min, após o resfriamento levou-se os fracos a um ambiente estéril juntamente com placas de Petri contendo o *Penicillium sclerotiorum*. Foi feita então a transferência do microrganismo contido nas placas de Petri (aproximadamente 90 mm de diâmetro) com auxílio de uma espátula para os frascos de Erlenmeyer.

Os frascos foram incubados a 28°C durante 115 h, sob agitação orbital de 150 rpm. Após esse período a biomassa foi separada do líquido metabólico por meio de centrifugação a 10.000 rpm por 15 min a 10°C. Obteve-se então o líquido metabólico livre de células, o qual foi utilizado para determinação do pH, tensão superficial, índice e atividade de emulsificação.

Figura 8 – Frascos de Erlenmeyer contendo os substratos e o *Penicillium* sp. no processo de fermentação (A1: casca do abacaxi + óleo queimado de motor; A2: casca do abacaxi + óleo de soja pós-fritura; B3: casca do abacate + óleo queimado de motor; B4: casca do abacate + óleo de soja pós fritura)



Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

4.6 Determinação do pH

A determinação do pH foi realizada em alíquotas coletadas dos extratos preparados das cascas do abacaxi e do abacate e do líquido metabólico após a separação da biomassa com auxílio de um potenciômetro.

4.7 Avaliação da tensão superficial

A tensão superficial foi medida pelo método do peso da gota utilizando o líquido metabólico de cada condição (extratos das cascas de frutas e óleos).

Seguindo a metodologia proposta por Behring *et al.* (2004), com o auxílio de uma bureta de 25 mL, foi realizada a contagem de 20 gotas do líquido metabólito em um béquer de 100 mL, para assim obter-se assim a massa da gota, possibilitando o cálculo do fator de correção e do raio.

A tensão superficial foi determinada a partir da equação da lei de Tate mostrada na Figura 9, sendo γ = tensão superficial, m = massa de uma gota, g = gravidade, r = raio da gota e f = fator de correção.

Figura 9 – Equação da Lei de Tate

$$\gamma = \frac{m \cdot g}{2\pi \cdot r \cdot f}$$

Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

4.8 Avaliação do índice de emulsificação (IE)

Os líquidos metabólicos livres de células foram utilizados, seguindo o método descrito por Cooper & Goldenberg (1987), para estimar o índice de emulsificação dos biossurfactantes produzidos foram distribuídos 2 mL de óleo de soja, óleo pós-fritura e óleo queimado de motor em tubos de ensaio proporcionando três condições para cada amostra do líquido metabólico. Logo em seguida foi adicionada a cada tubo de ensaio 2 mL de cada líquido metabólico e levado ao vórtex por 2 min para ser homogeneizado. Realizou-se leituras dos resultados com 24h, 48h, 96h e 336h, sendo

medido a altura do líquido emulsificado da coluna total. Para a determinação do percentual de emulsificação utilizou-se a fórmula de determinação de emulsão, conforme a Figura 10, sendo H_e a altura da emulsão e H_t a altura total da coluna.

Figura 10 – Fórmula de determinação de emulsão

$$\% = \frac{H_e}{H_t} \times 100$$

Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

4.9 Teste de dispersão

Seguindo a metodologia descrita por Bodour *et al.* (1998) e Youssefet *et al.* (2004), o teste de dispersão foi realizado utilizando uma placa de Petri (90 mm de diâmetro) com 35 mL de água e 5 mL de óleo queimado de motor colocado na superfície da água. O volume de 1 mL da cultura fúngica foi adicionado na superfície do óleo e a formação de uma zona clara indicou o tamanho da zona de dispersão, medida em mm.

Para a realização desse teste foi selecionado o líquido metabólico que apresentou o melhor valor de tensão superficial.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Produção do biossurfactante

A partir da fermentação realizada com as duas cascas de frutas e os dois tipos de óleos em no tempo de 115h utilizando o *Penicillium* sp., obteve-se os resultados a seguir para a determinação da tensão superficial a partir do método da gota contidos na Tabela 2.

Tabela 2 - Tensão superficial obtida após a fermentação de 115 h

Tensão Superficial					
Casca de fruta	Substrato da casca de fruta (mL)	Glicose (g)	Óleos pós-fritura (mL)	Óleo queimado de motor (mL)	Tensão superficial (mN/m) - 115h
Abacaxi	97	1	2	0	47,50
Abacaxi	97	1	0	2	69,87
Abacate	97	1	2	0	56,36
Abacate	97	1	0	2	50,87

Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

Como visto anteriormente, vários fatores determinam e influenciam a produção de biossurfactantes por microrganismos, exemplos desses fatores são a fonte de carbono e nitrogênio, pH, tempo de fermentação, agitação e a variação da temperatura, sendo as características de interferência mais comuns. A partir destes resultados obtidos de tensão superficial pôde-se comprovar quais variáveis de cascas e óleos utilizadas tiveram melhor contribuição para que houvesse a diminuição da tensão, sendo o valor de tensão superficial da água, equivalente a 72,436 m.N/m a 29°C., a referência para essa comparação.

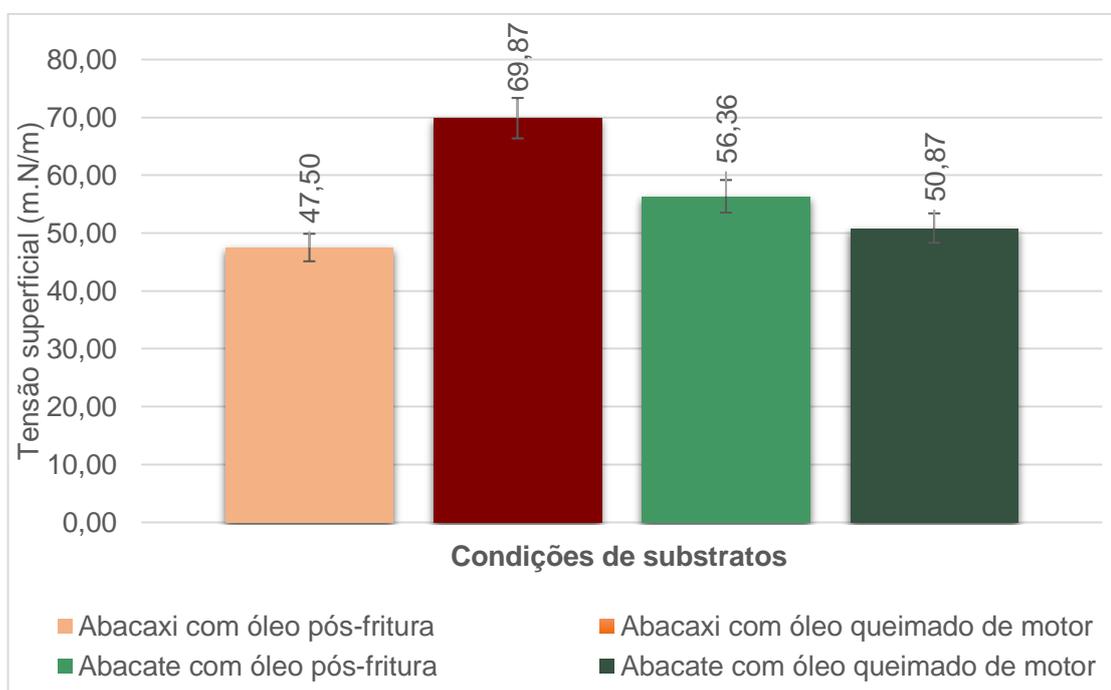
Os valores obtidos para tensão superficial nas quatro situações testadas no tempo de 115h variaram entre 47,50 mN/m e 69,87 mN/m. Levando em consideração que valores menores de tensão superficial são os mais desejados e em comparação com os resultados obtidos por Freitas (2021) de 42,77 mN/m, utilizando os resíduos

de milhocina e óleo pós-fritura na fermentação com o *Penicillium sclerotiorun* (UCP 1040) durante uma fermentação de 144h, pode-se afirmar que as cascas de abacaxi e abacate, além dos óleos utilizados são bons candidatos de substratos promissores para o desenvolvimento de estudos e teste para produção de biossurfactantes por fungos do gênero do *Penicillium*.

Como mostrado no Figura 11, o melhor sistema de obtenção de biossurfactantes e bioemulsificantes encontrado foi aquele contendo a casca do abacaxi juntamente com o óleo pós-fritura. Em contra partida, o sistema que apresentou resultados de tensão superficial mais alto foi aquele contendo a casca do abacaxi e o óleo queimado de motor. Os dois sistemas contendo as cascas do abacate apresentaram valores de tensão superficial muito próximos, sendo o valor de 56,36 mN/m para o sistema contendo a casca do abacate e o óleo pós fritura e 50,87 mN/m para aquele contendo a casca do abacate e o óleo de motor queimado.

Sendo assim, os sistemas que desencadearam uma maior diminuição da tensão superficial foram aqueles contendo a casca de abacaxi juntamente com o óleo pós-fritura, e o sistema contendo a casca de abacate em conjunto com o óleo queimado de motor.

Figura 11 – Representação gráfica da variação da tensão superficial em função dos diferentes substratos utilizados no processo de fermentação



Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

5.2 Produção do bioemulsificante

Sabendo que os bioemulsificantes apresentam características diferentes dos biossurfactantes e não depende da redução da tensão superficial para produção de emulsão, pelo fato de bioemulsificantes serem biopolímeros de alto peso molecular, faz-se necessário a realização do teste de emulsão para avaliação da eficácia na produção desses compostos.

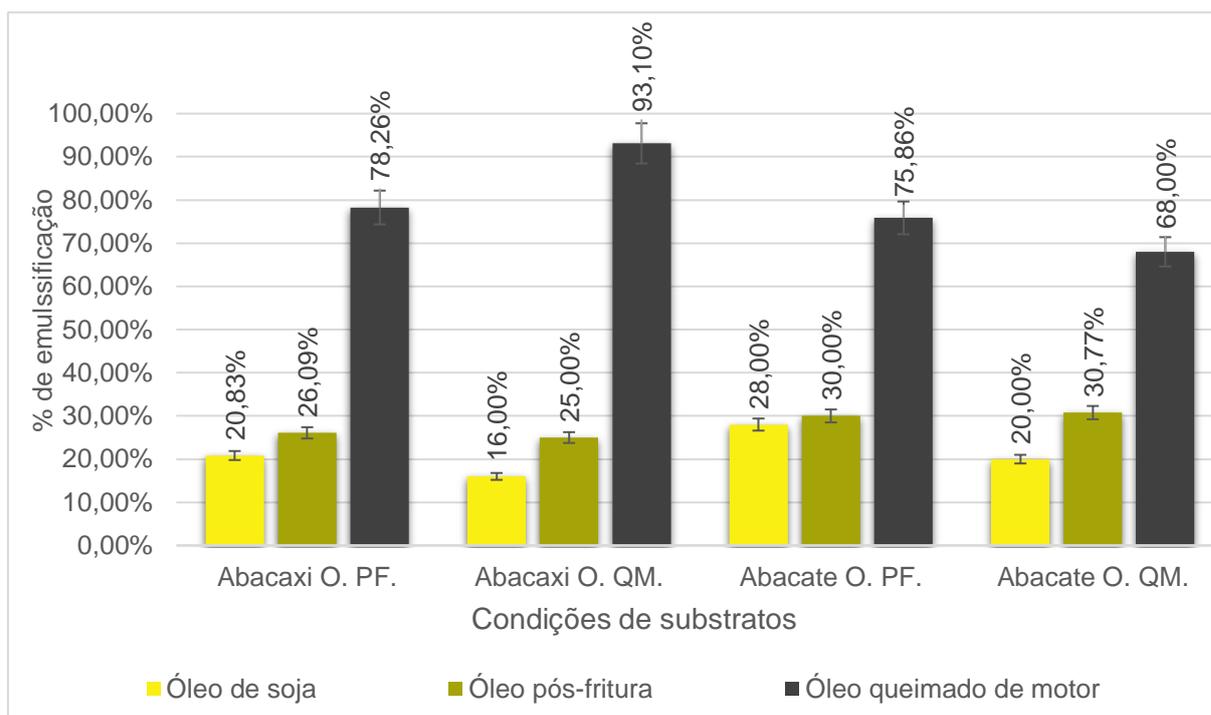
Para avaliação da produção de bioemulsificante realizou-se os testes utilizando o óleo de soja, óleo pós-fritura e óleo queimado de motor, juntamente aos líquidos metabólicos obtidos de cada fermentação, conforme está apresentado na Tabela 3 e Figura 12, mostrando o percentual de emulsão de cada variável após 24 horas.

Tabela 3 – Valores dos índices de emulsificação obtidos

Líquido metabólico	Índice de Emulsificação 24h		
	Óleo de soja	Óleo pós-fritura	Óleo queimado de motor
Abacaxi O. PF.	20,83%	26,09%	78,26%
Abacaxi O. QM.	16,00%	25,00%	93,10%
Abacate O. PF.	28,00%	30,00%	75,86%
Abacate O. QM.	20,00%	30,77%	68,00%

Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

Figura 12 – Representação gráfica da variação dos índices de emulsificação em função dos substratos utilizados para a fermentação



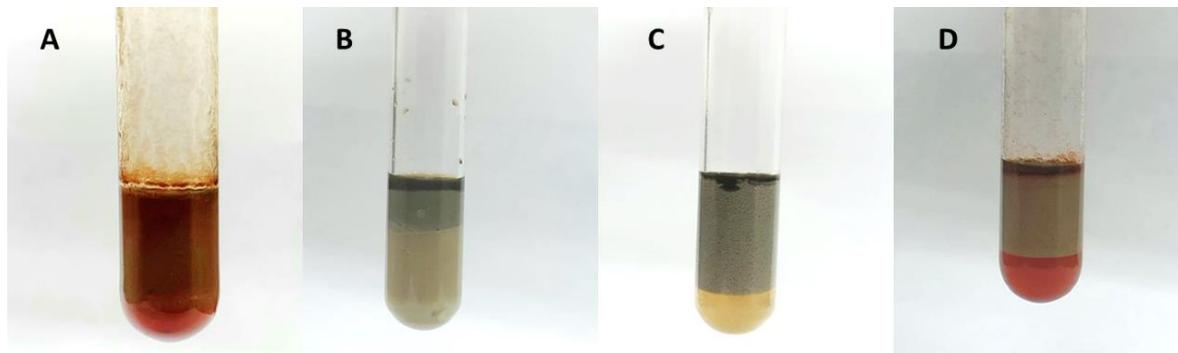
Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

Aos analisar os valores expressos em porcentagem (%) na tabela e no gráfico expressos acima, pode-se observar quais foram as melhores condições para a produção do bioemulsificantes após as emulsões formadas com uma avaliação de 24h.

Os quatro sistemas contendo as cascas de abacaxi e abacate e os óleos foram capazes de emulsificar o óleo de soja, o óleo pós-fritura e o óleo queimado de motor. A emulsificação do óleo de soja foi a que apresentou valores mais baixos, variando entre 16 a 20,83%. Os valores de emulsificação do óleo pós-fritura foram semelhantes aqueles encontrados para o óleo de soja, variando entre 25 a 30,77%.

A emulsificação do óleo queimado de motor apresentou valores bastante promissores para as quatro condições de substratos testados, estando estes valores contidos na faixa de 75,86 a 93,10% em um período de 24h após agitação conforme mostrado na Figura 13.

Figura 13 – Emulsificação do óleo queimado de motor através dos bioemulsificantes produzidos a partir dos diferentes substratos utilizados (A: casca do abacaxi + óleo pós-fritura; B: casca do abacaxi + óleo queimado de motor; C: casca de abacate + óleo pós-fritura; C: casca de abacate + óleo queimado de motor)



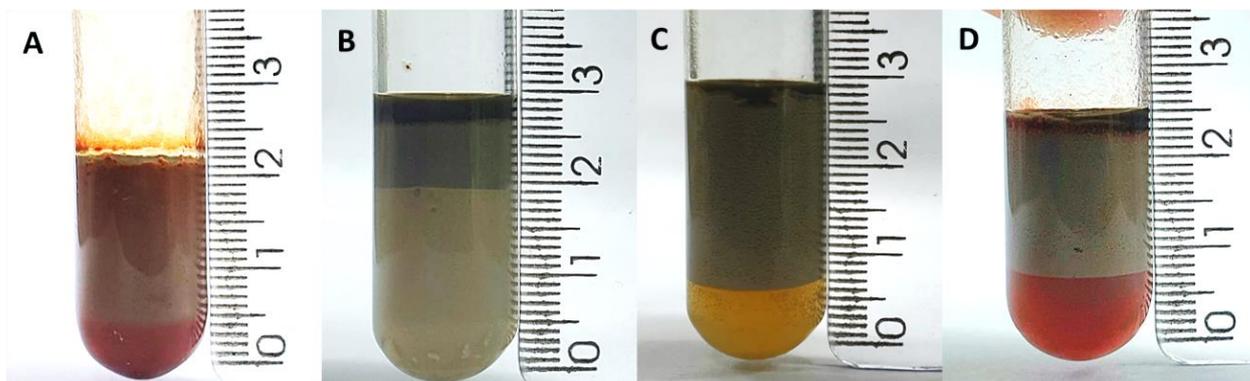
Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

A partir dos melhores resultados obtidos citados anteriormente, foi analisada a estabilidade das emulsões nos períodos de 24h, 48h, 96h e 336h.

As primeiras medições das alturas foram realizadas após 24h da emulsão, como demonstrado na Figura 14, sendo encontrados os seguintes valores: Emulsão A (casca do abacaxi + óleo pós-fritura) igual a 180 mm; Emulsão B (casca do abacaxi + óleo queimado de motor) igual a 270 mm; Emulsão C (casca do abacate + óleo pós-fritura) igual a 220 mm e Emulsão D (casca do abacate + óleo queimado de motor) igual a 170 mm.

Posteriormente, realizou-se as leituras no tempo de 48h, 96h e 336h. A altura da emulsão permaneceu a mesma em todos os intervalos de tempo, indicando assim a ótima estabilidade destas emulsões.

Figura 14 – Altura das emulsões contendo o óleo queimado de motor após 24h (A: casca do abacaxi + óleo pós-fritura; B: casca do abacaxi + óleo queimado de motor; C: casca de abacate + óleo pós-fritura; C: casca de abacate + óleo queimado de motor)



Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

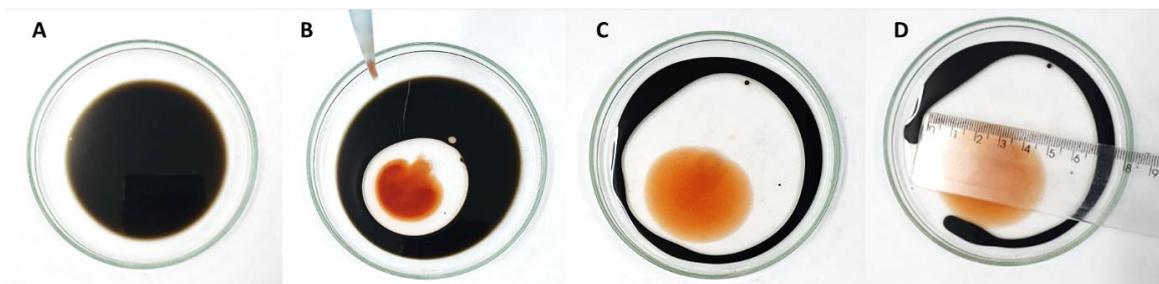
5.3 Teste de dispersão

A partir da melhor condição da tensão superficial obtida através da fermentação por 115h, sendo esta proveniente do sistema contendo a casca do abacaxi com óleo pós-fritura, que apresentou o valor de tensão superficial de 47,51 m.N/m, realizou-se o teste de dispersão com o líquido metabólico obtido deste sistema.

Esse procedimento foi realizado a fim de se obter mais uma confirmação da obtenção de um líquido capaz de reduzir a tensão superficial a partir da formação de uma zona clara em um meio contendo óleo ou derivados petroquímicos, sendo neste caso utilizado o óleo queimado de motor.

Foi aplicado 1 mL do líquido metabólico no centro do recipiente (placa de Petri de 90 mm) ao qual o óleo queimado de motor estava contido, como pode ser observado na Figura 15.

Figura 15 – Resultado do teste de dispersão do óleo queimado de motor utilizando o líquido metabólico proveniente do sistema de fermentação casca de abacaxi + óleo pós-fritura



Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

Após a adição do líquido metabólico sobre o óleo queimado de motor, houve a formação de uma zona clara e a partir dela pôde-se medir a zona de dispersão, a qual apresentou uma área de aproximadamente 70 mm (49.000mm²), ou seja, este líquido demonstrou boa capacidade de dispersar o óleo queimado de motor visto que dispersou tal compostos por cerca de 80% da área total da placa de Petri. Esse valor corrobora com o bom valor de tensão superficial obtido através do método do peso da gota (Tabela 2). Assim, pode-se constatar que o *Penicillium* sp juntamente com o substrato de casca de abacaxi e o óleo pós-fritura apresentam resultados promissores para desenvolvimento de biomoléculas com propriedade tensoativa.

Além de todos os parâmetros verificados, observou-se também que antes e após o processo de fermentação o pH não demonstrou alterações significativas (Tabela 4), o que indica uma boa estabilidade do processo.

Tabela 4 – Valores de pH antes e após a fermentação submersa

Caldo da casca	pH				
	Pré fermentação	Óleo pós fritura	Óleo queimado de motor	Pós fermentação com óleo pós fritura	Pós fermentação com óleo queimado de motor
Abacaxi	4	4,5	4,5	5	5
Abacate	6	6,5	6,5	7	7

Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

6 CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos nesse estudo pode-se concluir que:

- Os substratos utilizados (cascas de abacaxi, abacate, óleos pós-fritura, óleo queimado de motor) apresentaram resultados satisfatórios como fonte de micronutrientes para o desenvolvimento de biomoléculas a partir do *Penicillium* sp.
- A produção de biosurfactante por *Penicillium* sp com o substrato da casca de abacaxi com óleos pós-fritura e glicose mostrou-se eficiente pois houve uma redução da tensão superficial de 72,436 m.N/m para 47,50 m.N/m.
- A produção de bioemulsificante por *Penicillium* sp com os substratos da casca de abacaxi e abacate com óleos queimados de motor mostrou-se eficiente, pois houve formação emulsificação aplicadas ao óleo queimado de motor, com resultados superiores a 63,00% chegando a 93,10% de emulsificação com até 336h de leitura.
- Pode-se afirmar que os substratos testados com o *Penicillium* sp, foram ótimas escolhas para o desenvolvimento de bioativos como os bioemulsificantes e biosurfactantes pelos resultados obtidos da tensão superficial e do índice de emulsificação, além da sua boa estabilidade.
- Por fim, os estudos realizados apresentaram resultados satisfatórios demonstrando-se promissores para novos estudos relacionando procedimentos estatísticos, a fim de se identificar os fatores que melhor influenciam a produção dos bioemulsificantes e biosurfactantes, obtendo-se assim novos resultados que contribuam para a viabilização na produção industrial.

REFERÊNCIAS

- ALONSO, F. O. M. **Efeito da agitação e aeração na produção de lipases por *Yarrowia lipolytica* (IMUFRJ 50682)**. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2001.
- ASSUNÇÃO, Y. G.; GUIMARÃES, A. L. Da soja ao óleo de soja: benefícios à saúde. **Portal educação**, 2014.
- BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agro-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v. 99, 2006.
- BANAT, I. M. Biosurfactantes production and possible uses in microbial enhanced oil pollution remediation: A review. **Bioresource Technology**, v. 51, p. 1-12, 1995.
- BANAT, I. M.; FRANZETTI, A.; GANDOLFI, I.; BESTETTI, G.; MARTINOTTI, M. G.; FRACCHIA, L.; SMYTH, T. J.; MARCHANT, R. Microbial biosurfactants production, applications. **Application of microbiology biotechnenology**, v. 87, p. 427-444, 2010.
- BARROS, F. F. C.; QUADROS, C. P.; JUNIOR, M. R. M.; PASTORE, G. M. Surfactina, propriedades químicas, tecnológicas e funcionais para aplicação em alimentos. **Química nova**, v. 30, n. 2, p. 409-414, 2007.
- BEHRING, J. L.; LUCAS, M.; MACHADO, C.; BARCELOS, I. O. Adaptação no método do peso da gota para determinação da tensão superficial: um método simplificado para quantificação da CMC de surfactantes no ensino da química. **Química nova**, v. 30, p. 492-495, 2004.
- BRAIN & COMPANY; GAS ENERGY. Potencial de diversificação da indústria química brasileira: Relatório 4: Tensoativos. Rio de Janeiro, 52 p., 2014.
- BRAKHAGE, A. A. Regulation of fungal secondary metabolim. **Nature reviews microbiology**, v. 11, n. 1, p. 21-32, 2013.
- CARRERO, A.; VICENTE, G.; RODRÍGUEZ, R.; LINARES, M. DEL PESO, G. L. Hierarchical zeolites as catalysts for biodiesel production from *Nannochloropsis microalga* oil. **Catalysis Today**, v. 167, p. 148-153, 2011.
- CASTIGLIONI, G. L.; BERTOLIN, T. E.; COSTA, J. A. V. Produção de biosurfactante por *Aspergillus fumigatus* utilizando resíduos agroindustriais como substrato. **Química Nova**, v. 32, n. 2, p. 394-400, 2009.
- COUTO, S. R.; SANROMÁN, M. A. Application of solid-state fermentation to food industry – a review. **Journal of food engineering**, 2006.
- CUNHA, P. M. C.; PEIXOTO, Y. P.; ULLMAN, G.; SILVA, D. I. S.; BARROZO, M. A. S. Secagem da casca do abacate (*Persea americana*) e avaliação do comportamento do

teor de compostos bioativos. In Anais: X Congresso Brasileiro de Engenharia Química Iniciação Científica, v. 1, n. 1, 2014.

DAIUTO, E. R.; TREMOCOLDI, M. A.; ALENCAR, S. M.; VIEITES, R. L.; MINARELLI, P. H. Composição química e atividade antioxidante da polpa e resíduos de abacate 'Hass'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal – São Paulo, v. 36, n. 2, p. 417-424, 2014.

DALTIN, D. Introdução e primeiros conceitos. Tensoativos: química, propriedades e aplicações. São Paulo: Blusher, 2011. Cap. 1, p. 1-44.

DIAS, E. C.; ANDRADE, A. S. A.; SILVA, A. L.; DIAS, C. H. A.; SOUSA, A. C. B.; ALMEIDA, A; F; Utilização do extrato aquoso da algaroba na produção de biossurfactantes por *Bacillus subtilis*. **Revista saúde e ciência online**, v. 7, n.2 , p. 397-412, 2018.

EHRHARDT, D. D.; SECATO, J. F. F., TAMBOURGI, E. B. Produção de biossurfactante por *Bacillus subtilis* utilizando resíduo do processamento do abacaxi como substrato. São Paulo, 2015. In: Anais do XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química – COBEQ 2014, Blucher Chemical Engineering Proceedings, v. 1, n. 2.

ERKEL, A.; DE ÁVILA, C. A.; ROMEIRO, M. M.; DOS SANTOS, E. F.; SARMENTO, U. C.; NOVELLO, D. Utilização da farinha da casca de abacaxi em *cookies*: caracterização físico-química e aceitabilidade sensorial entre crianças. **Revista Uniabeu**, v. 8, n. 19, p. 272-288, 2015.

FARIA, A. F. **Produção, purificação e caracterização química de biossurfactantes produzidos por *Bacillus subtilis* em glicerina residual**. 2010. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2010.

FELIPE, L. O.; DIAS, S. C. Surfactantes sintéticos e biossurfactantes: vantagens e desvantagens. **Química e Sociedade**, São Paulo, v. 39, n. 3, p. 228-236, 2017.

FERREIRA, I. N. S. **Uso de óleo pós-fritura para produção econômica de biosmulsificante e biotensoativo por *mucor hiemalis* UCP 0039 isolado de solo da Caatinga (PE, Brasil)**. 2019. 92p. Dissertação (Mestrado em desenvolvimento de processos ambientais) – Universidade Católica de Pernambuco, Pernambuco, 2019.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAOSTAT). **Statistics division**. Rome: FAOSTAT, 2018. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. Acesso em: 25 de maio de 2023.

FREITAS, E. L. **Biotransformação de resíduos agroindustriais por *Penicillium sclerotiorum* (UCP 1040) na síntese de biossurfactante aplicados na biodeterioração de petroderivados**. 2021. Dissertação (Mestrado em Química) – Programa de Pós-graduação em Química, Universidade Estadual da Paraíba, 76f, Campina Grande, Paraíba, 2021.

GOMES, D. C. **Produção de esclerotiorina por *Penicillium sclerotiorum* e obtenção de derivados com aplicação potencial em alimentos**. 2011. Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos) – Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, 122f, Belo Horizonte, Minas Gerais, 2011.

GONDIM, J. A. M.; MOURA, M. F. V.; DANTAS, A. S.; MEDEIROS, R. L. S.; SANTOS, K. M. Composição centesimal e de minerais em cascas de frutas. **Ciências e Tecnologia dos Alimentos**, v. 25, n. 4, p. 825-827, 2005.

HILL, S. E. Emulsions. **Methods of testing protein functionality**. London: Chapman e Hall, p. 153-185, 1996.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Levantamento sistemático da produção agrícola**. Rio de Janeiro: IBGE, 2019. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-epecuaria/9201-levantamento-sistemico-da-producao-agricola.html?=&t=resultados/>. Acesso em: 20 de maio de 2023.

KENDRICK, B. Fungi: Importance and impact on humans. **eLS**. John Wiley & Sons Ltd, 2011.

KRIEGER, D.; CAMILIOS NETO, D.; MITCHELL, D. A. Production of microbial biosurfactants by solid-state cultivation. **Advances in experimental medicine and biology**. Biosurfactants. New York: Springer Science and Business media, LLC, v. 672, p. 203-209, 2010.

LAWNICZAK, L.; MARECIK, R.; CHRZANOWSKI, L. Contributions of biosurfactants to natural or induced bioremediation. **Applied microbiology biotechnology**, v. 97, p. 2327-2339, 2013.

LIMA, C. G.; VILELA, A. F. G.; SILVA, A. A. S.; PIANNOVSKI, A. R.; SILVA, K. K.; CARVALHO, V. F. M.; MUSIS, C. R.; MACHADO, S. R. P.; FERRARI, M. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade física de emulsões O/A contendo óleo de babaçu (*Orbignya oleífera*). **Revista brasileira de farmácia**, Rio de Janeiro, v. 89, p. 239-245, 2008.

LIMA, C. J. B. **Produção de biossurfactantes por *Pseudomonas aeruginosa* empregando óleo de soja residual**. 2007. Tese (Doutora em Engenharia Química) – Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais, 2007.

LIMA, D. P. **Avaliação do uso do sistema de código de barras de DNA para identificação de fungos potencialmente micotoxigênicos isolados de milho e derivados**. 2015. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Centro de Pesquisas René Rachou, Fundação Oswaldo Cruz, 126f, Belo Horizonte, 2015.

LIMA, R. A.; ANDRADE, R. F. S.; SANTOS, L. Q.; TAKAKI, G. M. C. Produção de biossurfactantes por *Pseudomonas fluorescens* em caldo de abacaxi (*Ananas*

comosus) com óleo de girassol pós-fritura e aplicação na remoção de derivado do petróleo. **Exacta**, v. 8, n. 2, p. 201-210, 2010.

LIMA, S. O. Produção de biossurfactante e bioemulsificante utilizando a casca da banana por *Penicillium sclerotiorum* (Ucp 1040). 2022. 37f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química Industrial) - Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2022.

MAKKAR, M. S.; CAMEOTRA, S. S.; BANAT, I. M. Advances in utilization of renewable substrates for biosurfactant production. **AMB Express**, p. 1-5, 2011.

MAKKAR, R. S.; CAMEOTRA, S. S. An update on the use of unconventional substrates for biosurfactant production and their new applications. **Applied and environmental microbiology**, v. 58, p. 428-434, 2002.

MAKKAR, T. S.; CAMEOTRA, S. S.; IBRAHIM, M. B. Advances in utilization of renewable substrates for biosurfactant production. **AMB express**, v. 1, n. 5, p. 1-19, 2011.

MAKRIS, D. P.; BOSKOU, G.; ANDRIKOPOULOS, N. K. Polyphenolic content and in vitro antioxidant characteristics of wine industry and other agri-food solid waste extracts. **Journal of food composition and analysis**, v. 20, 2007.

MARINHO, O. S. S.; SILVA, R. R.; LUNA, J. M. Biosurfactantes microbianos y aplicaciones ambientales: una revisión narrativa. **Research, Society and development**, v. 11, n. 12, 2022.

MARTINS, L. H. S.; KONAGANO, E. M. H.; SOUZA, R. L. L. S.; LOPES, A. S. Análise físico-química de diferentes resíduos agroindustriais para possível utilização na indústria. **Brazilian journal of development**, Curitiba, v. 6, n. 2, p. 6936-6948, 2020.

MENEZES, C. R.; DURRANT, L. R. Xilooligossacarídeos: produção, aplicações e efeitos na saúde humana. **Ciência Rural**, v. 38, 2008.

MONTEIRO, M. C. P.; **Identificação de fungos do gênero *Aspergillus* e *Penicillium* em solos preservados do Cerrado**. 2012. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 76p, 2012.

MORAES, A. M. L.; PAES, R. A.; HOLANDA, V. L. Micologia. In: Instituto Oswaldo Cruz. **Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratório de saúde: Volume 4**. Rio de Janeiro: EPSJV/IOC; p. 399-496, 2010.

MULLIGAN, C. N.; YOUNG, R. N.; GIBBS, B. F. Surfactant-enhanced remediation of contaminated soil: a review. **Engineering Geology**, v. 60, p. 371-380, 2001.

NAKAMA, Y. Surfactantes. **Ciências e tecnologia cosmética: princípios teóricos e aplicações**, Kanagawa: Kishi Kasei Co., Cap. 15, p. 231-244, 2017.

NITSCHKE, M.; PASTORE, G. M. Biossurfactantes: propriedades e aplicações. **Química nova**, v. 25, n. 5, p. 772-776, 2002.

OLKOWSKA, E.; RUMAN, M.; POLKOWSKA, Z. Occurrence of surface active agents in the environment. **Journal of analytical methods in chemistry**, v. 2014, 2014.

PACWA-PLOCINICZAK, M.; PLAZA, G. A.; PIOTROWSKA-SEGT, Z.; CAMEOTRA, S. S. Review environmental applications of biosurfactants: recent advances. **International journal of molecular sciences**, n. 12, p. 633-654, 2011).

PEGADO, R. M.; ALVES, D. W. S.; DANTAS, T. N. C.; NETO, A. A. D. Estudos de novos emulsificantes visando a obtenção de emulsões com óleos básicos naftênicos. In Anais: 2º Congresso Brasileiro de P&D em Petróleo e Gás, Rio Grande do Norte, 2003.

PINTO, M. H. **Produção de biossurfactantes bacteriano e fúngico por fermentação em estado sólido e submersa utilizando resíduos agroindustriais**. 2008. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Departamento de Química, Universidade Federal do Rio Grande, 147f, Rio Grande do Sul, 2008.

RAUTELA, R.; CAMEOTRA, S. S. Role of biopolymers in industries: their prospective future applications. **Environment and sustainable development**, India, p. 133-142, 2014.

ROSSMANN, M. **Otimização da produção e propriedades tensoativas de biossurfactantes em meio a base de melão e manipueira**. 2008. 112p. Dissertação (Mestrado em microbiologia agrícola) – Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2008.

RUFINO, R. D.; SARUBBO, L. A.; BARROS-NETO, B.; CAMPOS-TAKAKI, J. G. M. Experimental design for the production of tensio-active agent by *Candida lipolytica*. **Journal of industrial microbiology and biotechnology**, v. 35, p. 907-914, 2008.

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

SANTOS, C. V. M.; VIEIRA, I. M. M.; SANTOS, B. L. P.; RUZENE, D. S.; SILVA, D. P. Biossurfactante - conceitos gerais e perspectivas. **Ambiente e sociedade: concepções, fundamentos, diálogos e práticas para conservação da natureza**. São Paulo: Editora Científica, Cap. 22, p. 319-342, 2021.

SANTOS, D. K. F.; RUFINO, R. D.; LUNA, J. M.; SANTOS, V. A.; SARUBBO, L. A. Biosurfactants: multifunctional biomolecules of the 21st century. **International journal of molecular Science**, v. 13, p. 401, 2016.

SANTOS, M. L. G. **Processo pirolítico da biomassa residual do abacaxi**. 2018. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Ambiental) – Universidade de Ribeirão Preto, 85f, Ribeirão Preto, 2018.

SEKHON-RANDHAWA, K. K. Biosurfactants produced by genetically manipulated microorganisms: challenges and opportunities. **Biosurfactants**. CRC Press, Boca Raton, p. 49-67, 2014.

SEMPERE, F.; SANTAMARINA, M. P. Study of the interactions between *Penicillium oxalicum* Currie & Thom and *Alternaria alternate*. **Brazilian journal of microbiology**, Espanha, 2010.

SENA, R. F.; NUNES, M. L. Utilização de resíduos agroindustriais no processamento de rações para carcinicultura. **Revista brasileira de saúde e produção animal**, v. 7, 2006.

SILVA, N. R. A. **Potencial biotecnológico de *Cunninghamella echinulata* UCP 1297 na produção de biossurfactantes por fermentação submersa**. 2014. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento de Processos Ambientais) - Universidade Católica de Pernambuco, Pernambuco, 2014.

TURCHI, M.; KARCZ, P. A.; ANDERSSON, M. P. First-principles prediction of critical micellar concentrations for ionic and nonionic surfactants. **Journal of colloid and interface science**, v. 606, p. 618-627, 2022.

UZOIGWE, C.; BURGESS, J. G.; ENNIS, C. J.; RAHMAN, P. K. S. M. Bioemulsifiers are not biosurfactants and require different screening approaches. **Frontiers in microbiology**, v. 6, p. 245, 2015.

VECINO, X.; BARBOSA-PEREIRA, L. DEVESA-REY, R.; CRUZ, J. M.; MOLDES, A. B. Optimization of liquid-liquid extraction of biosurfactants from corn steep liquor. **Bioprocess and biosystems engineering**, v. 38, p. 1629-1637, 2015.

WILLUMSON, P. A.; KARLSON, U. Triagem de bactérias, isoladas de solo contaminado com PAH, para produção de biossurfactantes e bioemulsificantes. **Bioderadação**, v. 7, p. 415-423, 1997.

ZANON, A. B. **Aspectos teóricos e práticos sobre a avaliação da estabilidade de emulsões manipuladas em farmácia**. 2010. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Farmácia) – Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 52f, Porto Alegre, 2010.

ZHAO, Z.; SELVAM, A.; WONG, J. W.; Synergistic effect of thermophilic temperature and biosurfactant produced by *Acinetobacter calcoaceticus* BU03 on the biodegradation of phenanthrene in bioslurry system. **Journal of hazardous materials**, v. 190, p. 345-350, 2011.