

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS – *campus* SOROCABA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PLANEJAMENTO E USO DE RECURSOS  
RENOVÁVEIS – PPGPUR  
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA PARA SUSTENTABILIDADE - CCTS

MARIA DOS REMÉDIOS ARAÚJO VIEIRA NETA

PRODUÇÃO DE BIOSSURFACTANTE POR *Rhodotorula mucilaginosa* EM HIDROLISADO  
HEMICELULÓSICO DO BAGAÇO DE MALTE

SOROCABA-SP  
2021

**MARIA DOS REMÉDIOS ARAÚJO VIEIRA NETA**

PRODUÇÃO DE BIOSURFACTANTES POR *Rhodotorula mucilaginosa* EM HIDROLISADO  
HEMICELULÓSICO DO BAGAÇO DE MALTE

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Planejamento e Uso de Recursos Renováveis, ao Centro de Ciências e Tecnologia para Sustentabilidade da Universidade Federal de São Carlos, *campus* Sorocaba, para obtenção do título de Doutora em Planejamento e Uso de Recursos Renováveis.

Orientadora: Dra. Iolanda Cristiana Silveira Duarte

Sorocaba-SP  
2021

Araújo Vieira Neta, Maria dos Remédios

Produção de biossurfactante por *Rhodotorula mucilaginosa* em hidrolisado hemicelulósico do bagaço de malte / Maria dos Remédios Araújo Vieira Neta -- 2021.  
136f.

Tese de Doutorado - Universidade Federal de São Carlos, campus Sorocaba, Sorocaba

Orientador (a): Iolanda Cristiana Silveira Duarte

Banca Examinadora: Tiago Palladino Delforno,, Luísa

Helena dos Santos Oliveira, Laís Americo Soares,

Roberta Barros Lovaglio

Bibliografia

1. Biomassas lignocelulósicas. 2. Leveduras. 3. Biossurfactantes. . I. Araújo Vieira Neta, Maria dos Remédios. II. Título.



---

**Folha de Aprovação**

---

Defesa de Tese de Doutorado da candidata Maria dos Remédios Araújo Vieira Neta, realizada em 31/08/2021.

**Comissão Julgadora:**

Profa. Dra. Iolanda Cristina Silveira Duarte (UFSCar)

Prof. Dr. Tiago Palladino Delforno (SENAI)

Profa. Dra. Luísa Helena dos Santos Oliveira (UFABC)

Profa. Dra. Laís Americo Soares (USP)

Profa. Dra. Roberta Barros Lovaglio (UFSCar)

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa de Pós-Graduação em Planejamento e Uso de Recursos Renováveis.

**DEDICATÓRIA**

*Aos meus avós (in memoriam)*

*Aos meus filhos, à minha mãe e minhas irmãs e  
sobrinhãs e aos meus grandes amigos, dedico*

## AGRADECIMENTOS

À Deus por ter me dado saúde, força e coragem para superar as dificuldades e propor sempre um novo mundo de possibilidades.

À minha orientadora Dra. Iolanda Cristina Silveira Duarte pela oportunidade, confiança, paciência e ensinamentos.

À Universidade Federal de São Carlos – *campus* Sorocaba pela singular estrutura de aprendizado e pesquisa.

Ao Programa de Pós-Graduação em Planejamento e Uso Dos Recursos Renováveis, principalmente aos colegas, professores e secretárias do programa.

Aos discentes Diego e João do Laboratório de Bioenergia e Materiais Lignocelulósicos, a pós-doutoranda Milene integrante do Laboratório de Divisão de Recursos Microbianos – CPQBA/UNICAMP, ao Dr. Jonas Cordeiro, a doutoranda Ana Maria e a mestranda Ingrid integrantes do Laboratório Associado Prof. Dr. Alcides Serzedello, ao Dr. Evandro Ebona e ao MSc. João Guilherme por colaborarem na realização de algumas análises, essenciais para o desenvolvimento desta pesquisa.

Aos colegas do Laboratório de Microbiologia Aplicada.

À Lonza pelo apoio financeiro ao Laboratório de Microbiologia Aplicada.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - (CAPES), pois o presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

À minha família, especialmente as minhas filhas Emily e Emanuely, ao meu filho Vinícius, a minha mãe Ana Lucia, as minhas irmãs Rayane e Luciana e as minhas sobrinhas Monique, Sabrina, Nicole e Naiara.

E a todos que fizeram parte direta ou indiretamente da minha formação.

A todos, meu muito obrigada!

## RESUMO

Os resíduos provenientes das agroindústrias são ricos em carboidratos e atualmente são bastante estudadas para produção de diversos produtos de valor agregado (biossurfactantes, biogás, etanol, xilitol, aminoácidos, vitaminas, enzimas, biocompósitos etc.). O reaproveitamento de resíduos é uma alternativa ecologicamente viável, pois contribui para redução da poluição do meio ambiente e valorização destes, provenientes das agroindústrias. Dentre esses resíduos destaca-se o bagaço de malte (BM), que é um resíduo lignocelulósico oriundo das agroindústrias cervejeiras, produzido em larga escala no mundo todo. Esse resíduo é destinado principalmente como ração animal, no entanto, a oferta supera a demanda. Dessa maneira, faz-se necessário a busca de novas alternativas para o reaproveitamento do BM. Alguns estudos relatam que BM pode ser usado como suplemento na dieta humana devido ao elevado teor de fibras e proteínas, sendo também bastante estudado para produção de etanol e xilitol. Entretanto na literatura não há relatos da produção de biossurfactante a partir desse resíduo. Com o intuito de preencher essa lacuna, o principal objetivo desta pesquisa foi estudar o potencial do BM para produção de biossurfactante pela levedura oleaginosa *Rhodotorula mucilaginosa* LBP5. A partir da caracterização físico-química do BM, constatou-se que essa biomassa é rica em fibras, proteínas, minerais e açúcares. Para o BM a ser usado no processo fermentativo, fez-se necessário à sua hidrólise com ácido diluído (1,6% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), para liberação dos açúcares fermentáveis presentes na estrutura da hemicelulose. Os hidrolisados hemicelulósicos obtidos foram usados como fonte de carbono pela *R. mucilaginosa* LBP5 durante a produção de biossurfactante. O biossurfactante produzido apresentou natureza aniônica, e por meio da técnica FT-IR pode-se inferir que o mesmo é do tipo glicolipídios, o qual apresenta Concentração Micelar Crítica de 1,5 g/L, reduz a tensão superficial para 40,7 mN/m. Além disso, apresentou propriedades emulsificantes (I.E% = 72%) e estabilidade frente a condições extremas como temperatura (4 – 80 °C), pH (4-10) e salinidade (2 – 8% NaCl). Dessa forma o hidrolisado do BM pode ser usado como fonte de carbono alternativa para produção de biossurfactante a partir de leveduras.

**Palavras-chave:** Lignocelulose. Hidrólise. Monossacarídeos. Leveduras. Tensoativos.

## ABSTRACT

The residues from agro-industries are rich in carbohydrates and are currently being studied for the production of several value-added products (biosurfactants, biogas, ethanol, xylitol, amino acids, vitamins, enzymes, biocomposites, etc.). The reuse of waste is an ecologically viable alternative, as it contributes to reducing the pollution of the environment and valuing these, coming from agribusiness. Among these residues, malt bagasse (BM) stands out, which is a lignocellulosic residue from the brewing agribusinesses, produced on a large scale throughout the world. This residue is mainly destined as animal feed; however, the offer exceeds the demand. Thus, it is necessary to search for new alternatives for the reuse of the BM. Some studies report that BM can be used as a supplement in the human diet due to its high fiber and protein content, and it is also widely studied for the production of ethanol and xylitol. However, in the literature there are no reports on the production of biosurfactant from this residue. Thus, the main focus of this research was to study the potential of BM for biosurfactant production by the oleaginous yeast *Rhodotorula mucilaginosa* LBP5. From the physical-chemical characterization of BM, it was found that this biomass is rich in fibers, proteins, minerals and sugars. And for BM to be used in the fermentation process, its hydrolysis with dilute acid (1.6% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) was necessary to release the fermentable sugars present in the hemicellulose structure. The obtained hemicellulosic hydrolysates were used as carbon source by *R. mucilaginosa* LBP5 during the production of biosurfactant. The biosurfactant produced was anionic in nature, and through the FT-IR technique it can be inferred that it is of the glycolipids type, which has a Critical Micellar Concentration of 1.5 g/L, reduces the surface tension to 40,7 mN/m. Furthermore, it presented emulsifying properties (I.E% = 72%) and stability under extreme conditions such as temperature (4 – 80 °C), pH (4-10) and salinity (2 – 8% NaCl). Thus, the BM hydrolyzate can be used as an alternative carbon source for the production of biosurfactant from yeast.

**Keywords:** Lignocellulose. Hydrolysis. Monosaccharides. Yeasts. Surfactants.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### CAPÍTULO 1

- Figura 1.** Relação entre a concentração de biossurfactante, tensão superficial e formação de micelas. **14**
- Figura 2.** Esquema da estrutura da lignocelulose mostrando frações de celulose, hemicelulose e lignina. **17**
- Figura 3.** Subprodutos formados durante o processo de hidrólise de biomassas lignocelulósicas. **21**
- Figura 4.** Esquema simplificado da produção de bagaço de malte a partir da cevada natural. **24**
- Figura 5.** Levedura oleaginosa *Rhodotorula mucilaginosa* LBP5 semeada em ágar Sabouraud. **28**

### CAPÍTULO 2

- Figura 1.** Relação entre a concentração de biossurfactante (g/L), tensão superficial (mN/m) e formação de micelas, criada com *BioRender.com*. **53**
- Figura 2.** Substratos usados como fonte de carbono e nitrogênio para produção de biossurfactantes pelos microrganismos, criado com *BioRender.com*. **56**

### CAPÍTULO 3

- Figura 1.** Fluxograma simplificado da metodologia executada para produção de biossurfactante por levedura oleaginosa. **82**
- Figura 2.** Micrografia do bagaço de malte obtida em microscópio eletrônico de varredura: bagaço de malte fresco (a); holocelulose (b) e  $\alpha$ -celulose após branqueamento (c) e após tratamento com ácido sulfúrico (1,6%) em diferentes concentrações do bagaço de malte (m/v): 16,1% (d, e), 8,9% (f, g) e 12,5% (h, i). **94**
- Figura 3.** Espectro infravermelho do bagaço de malte *in natura* e hidrolisado. **96**
- Figura 4.** Gráfico de contorno de emulsificação do meio de cultura livre de células de *Rhodotorula mucilaginosa* LBP5. x1 = temperatura, x2 = pH, x3 = BM/hidrolisado, x4 = inóculo. **101**
- Figura 5.** Gráfico de otimização multiobjetivo para maximizar a emulsão e minimizar a tensão superficial. **102**
- Figura 6.** Cinética da produção de biossurfactante pela *Rhodotorula mucilaginosa* LBP5 em meio contendo hidrolisados hemicelulósicos e avaliação das propriedades emulsificantes durante 72 h de fermentação (a). Quantificação de açúcares, no início (0 h) e ao final (72 h) da fermentação pela técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência - HPLC (b). **107**

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 7.</b>	Índice emulsificação I.E% (a) e atividade emulsificante (A.E) (b) do biossurfactante produzido pela <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> LBP5.	<b>109</b>
<b>Figura 8.</b>	Microscopia óptica das emulsões formadas entre o biossurfactante e os substratos hidrofóbicos (querosene e óleo de soja) (aumento de 100X).	<b>110</b>
<b>Figura 9.</b>	Estabilidade do biossurfactante produzido <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> LBP5 em diferentes condições de temperatura (a), pH (b) e salinidade (c).	<b>112</b>
<b>Figura 10.</b>	Concentração micelar crítica (CMC) e tensão superficial (TS) mínima do biossurfactante produzido por <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> LBP5.	<b>113</b>
<b>Figura 11.</b>	Teste de deslocamento de óleo: Água sobre óleo (a), surfactante SDS (b), biossurfactante produzido pela <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> LBP5 em hidrolisado hemicelulósico (c). Caráter iônico do biossurfactante em ensaio de dupla difusão em ágar de baixa dureza (1%) (d).	<b>114</b>
<b>Figura 12</b>	Espectro do infravermelho obtido do biossurfactante produzido pela <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> LBP5.	<b>115</b>

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO 1

<b>Tabela 1.</b>	Classificação dos biossurfactantes e microrganismos produtores.	<b>10</b>
<b>Tabela 2.</b>	Composição (%) de biomassas lignocelulósicas usadas na produção de biossurfactante.	<b>18</b>
<b>Tabela 3.</b>	Substratos testados para produção de biossurfactante pelas leveduras.	<b>26</b>

### CAPÍTULO 2

<b>Tabela 1.</b>	Classificação dos biossurfactantes e microrganismos produtores.	<b>55</b>
<b>Tabela 2.</b>	Fontes de carbono e nitrogênio utilizadas para produção de biossurfactantes pelos microrganismos.	<b>58</b>
<b>Tabela 3.</b>	Concentração de açúcares (g/L) em biomassas lignocelulósicas usadas para a produção de biossurfactante por diferentes microrganismos.	<b>62</b>

### CAPÍTULO 3

<b>Tabela 1.</b>	Variáveis e níveis analisados no design experimental para produção de biossurfactante pela levedura <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> LBP5.	<b>85</b>
<b>Tabela 2.</b>	Composição (%) do bagaço de malte em diferentes pesquisas.	<b>92</b>
<b>Tabela 3.</b>	Composição química do hidrolisado hemicelulósico do bagaço de malte via técnica de Cromatografia Líquida de Alto Desempenho – HPLC.	<b>98</b>
<b>Tabela 4.</b>	Efeitos das variáveis independentes sobre as variáveis dependentes avaliadas para a produção de biossurfactante por <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> LBP5. O valor $p$ de cada efeito é mostrado entre colchetes.	<b>100</b>
<b>Tabela 5.</b>	Estabilidade das emulsões do biossurfactante produzido pelas <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> LBP5 em diferentes substratos hidrofóbicos.	<b>110</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A.E - Atividade Emulsificante

ABS - Absorbância

AR - Açúcar Redutor

ATR - Refletância Total Atenuada

BM - Bagaço de Malte

$C_5H_{10}O_5$  - Xilose

$C_6H_{12}O_6$  - Glicose

$Ca(OH)_2$  - Hidróxido de Cálcio

$CaCO_3$  - Carbonato de Cálcio

CMC - Concentração Micelar Crítica

CTAB - Brometo de Cetiltrimetilamônio

DNS - Ácido Dinitrosalicílico

E.E - Estabilidade da Emulsão

EDS - Espectrômetro de Energia Dispersiva

FT-IR - Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier

$H_2SO_4$  - Ácido Sulfúrico

$H_3PO_4$  - Ácido fosfórico

HCl - Ácido Clorídrico

HMF – Hidroximetilfurfural

$HNO_3$  - Ácido nítrico

HPLC - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

I.E% - Índice de Emulsificação em porcentagem

IC<sub>50</sub> - Concentração de Inibição

IR – Espectro Infravermelho

$KH_2PO_4$  - Fosfato Monopotássico

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

MEL ou MELs - Lipídios de Manosileritritol

MEV - Microscopia Eletrônica de Varredura

MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O - Sulfato de Magnésio Heptahidratado

mN/m – Millinewton/metro

NaCl – Cloreto de Sódio

NaNO<sub>3</sub> - Nitrato de Sódio

NaOH – Hidróxido de Sódio

nd - não determinado

nm – nanômetro

rpm - Rotações por Minuto

SDS - Dodecil Sulfato de Sódio

SL - Soforolipídio

SLs – Soforolipídios

TI - Tensão Interfacial

TS - Tensão Superficial

U.E - Unidade Emulsificante

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>9</b>
1. INTRODUÇÃO GERAL .....	9
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	9
2.1 Biossurfactantes: Classificação, Propriedades e Aplicações .....	9
2.2 Subprodutos Agroindustriais para Produção de Biossurfactante .....	16
2.3 Composição e Estrutura Química das Biomassas Lignocelulósicas .....	18
2.4 Hidrolisados Hemicelulósicos .....	19
2.5 Bagaço de Malte: Uma Biomassa Lignocelulósica .....	21
2.6 Levedura Oleaginosa: <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> .....	27
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>29</b>
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	<b>49</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>49</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>50</b>
1. INTRODUÇÃO .....	51
2. METODOLOGIA .....	51
3. BIOSSURFACTANTES: SURFACTANTES DE ORIGEM BIOLÓGICA .....	52
4. IMPORTÂNCIA DAS FONTES DE CARBONO E NITROGÊNIO PARA A PRODUÇÃO DE BIOSSURFACTANTES .....	55
5. HIDRÓLISE DE BIOMASSAS LIGNOCELULÓSICAS E PRODUÇÃO DE BIOSSURFACTANTE A PARTIR DE HIDROLISADOS HEMICELULÓSICOS RICOS EM XILOSE .....	59
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	66
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>68</b>
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	<b>77</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>77</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>78</b>
1. INTRODUÇÃO .....	79
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	82
2.1 Bagaço de Malte: Composição e Caracterização Físico-Química .....	83
2.2 Microscopia Eletrônica de Varredura - MEV .....	83
2.3 Obtenção dos Hidrolisados Hemicelulósicos do Bagaço de Malte .....	83
2.4 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR): Bagaço de Malte .....	84
2.5 Composição Química dos Hidrolisados Hemicelulósicos .....	84

2.6 Design Experimental .....	84
2.6.1 Microrganismo e Inóculo.....	85
2.6.2 Condições de Cultivo para Produção de Biossurfactante .....	85
2.6.3 Determinação das Respostas.....	86
2.6.3.1 Índice de Emulsificação (I.E%) e Tensão Superficial (TS) .....	86
2.7 Produção de Biossurfactante .....	86
2.7.1 Estimativa da Biomassa e pH .....	87
2.7.2 Análise de Açúcar.....	87
2.7.3 Propriedades Funcionais do Biossurfactante.....	88
2.7.3.1 Índice de Emulsificação (I.E%), Atividade Emulsificante (A.E) e Estabilidade da Emulsão (E.E) em Diferentes Substratos Hidrofóbicos .....	88
2.7.4 Estabilidade do Biossurfactante: Temperatura, pH e Salinidade .....	88
2.7.5 Extração do Biossurfactante .....	89
2.7.6 Determinação do Caráter Iônico .....	89
2.7.7 Teste de Dispersão de Óleo .....	89
2.7.8 Concentração Micelar Crítica (CMC) .....	89
2.7.9 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier – FT-IR: Biossurfactante.....	90
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	91
3.1 Composição Química do Bagaço de Malte .....	91
3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura - MEV.....	92
3.3 Espectroscopia Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR): Bagaço de Malte .....	94
3.4 Composição Química dos Hidrolisados Hemicelulósicos .....	96
3.5 Determinação da Condição Ótima para Produção de Biossurfactante.....	98
3.6 Produção de Biossurfactante pela <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> LBP5.....	104
3.7 Propriedades Funcionais do Biossurfactante .....	107
3.7.1 Índice de Emulsificação (I.E%), Atividade Emulsificante (A.E) e Estabilidade da Emulsão (E.E) em Diferentes Substratos Hidrofóbicos .....	107
3.8 Estabilidade Frente a pH, Temperatura e Salinidade .....	110
3.9 Concentração Micelar Crítica - CMC.....	113
3.10 Caracterização Parcial do Biossurfactante .....	114
4. CONCLUSÃO .....	116
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>117</b>
<b>CAPÍTULO 4 .....</b>	<b>128</b>
CONCLUSÃO FINAL .....	128

# CAPÍTULO 1

---

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

O interesse na produção de biossurfactante vem ganhando destaque no setor industrial, pois esses compostos produzidos por microrganismos apresentam vantagens em relação aos surfactantes químicos devido a sua diversidade estrutural (glicolipídios, lipopeptídios, surfactantes poliméricos, ácidos graxos entre outros), baixa toxicidade, alta biodegradabilidade e estabilidade em condições extremas. Devido a essas características, podem ser aplicados em diversos campos da indústria petrolífera, alimentos, cosméticos, farmacêuticas e agrícola.

Apesar das vantagens dos biossurfactantes em relação aos seus homólogos químicos, os biossurfactantes ainda não são amplamente comercializados, pois a sua produção em larga escala é inviabilizada devido os custos da produção serem onerosos. Portanto, uma estratégia alternativa é a utilização de substratos mais baratos que podem diminuir os custos de produção em até 50% no produto, tornando-os competitivos em relação aos surfactantes químicos.

Atualmente, a busca por substratos sustentáveis para a produção de biossurfactante, assim como a otimização dos processos de produção e melhor recuperação do biossurfactante é bastante investigada, visando reduzir o custo de produção e comercialização dos biossurfactantes no mercado, uma vez que esses tensoativos são ecologicamente viáveis, por não serem nocivos ao meio ambiente e ao homem. Resíduos como óleos, gorduras, biomassas lignocelulósicas (bagaço-de-cana, palha de arroz, casca de frutas etc.), hidrocarbonetos são substratos de baixo valor de aquisição, os quais já foram empregados para produção de biossurfactantes demonstrando excelentes resultados.

No Brasil, as agroindústrias produzem diversos resíduos lignocelulósicos, dentre estes destaca-se o bagaço de malte (BM), que é gerado em grande quantidade durante o processo de fabricação da cerveja. O BM representa 85% dos resíduos cervejeiros. Esse resíduo é rico em açúcares (hexoses e pentoses), os quais estão polimerizados nas fibras de hemicelulose e celulose. Esses açúcares podem ser liberados pelo processo de hidrólise com ácidos diluídos, podendo ser utilizados como fonte de carbono para os microrganismos na produção de biossurfactantes.

Como há poucos relatos na literatura sobre a produção de biossurfactante a partir de hidrolisados hemicelulósicos, o presente trabalho teve por objetivo produzir biossurfactante pela *Rhodotorula mucilaginosa* LBP5 a partir de hidrolisado do BM. Para isso formulou-se a

seguintes perguntas: A hidrólise com ácido diluído é eficiente para liberar os açúcares das fibras hemicelulósicas do BM? Os hidrolisados hemicelulósicos têm potencial para serem usados como fonte de carbono para produção de biossurfactante por levedura oleaginosa?

Espera-se que a hidrólise do BM com ácido diluído ( $H_2SO_4$ ) em condições otimizadas (temperatura 120 °C, pressão 1 atm e por 30 min) sejam eficientes para liberar os açúcares (pentose e hexose) que estão polimerizados nas fibras da hemicelulose, e que esses possam ser usados como fonte de carbono para produção de biossurfactantes pela levedura *R. mucilaginosa* LBP5. Também se espera que ocorra uma baixa concentração de subprodutos de degradação como ácidos, furfural e hidrometilfurfural (HMF). Como a *R. mucilaginosa* consegue metabolizar açúcares (pentose e hexose) e compostos como ácido acético, furfural e HMF (Vajzovic *et al.*, 2012) e tendo em vista que espécies desse produzem biossurfactantes a partir de diferentes substratos (Sen *et al.*, 2017; Kawahara *et al.*, 2013), a *R. mucilaginosa* LBP5 parece ser uma excelente candidata processos de fermentação na produção de biossurfactante.

A presente tese foi dividida em quatro capítulos. O capítulo 1 mostra uma visão geral e uma revisão bibliográfica da temática proposta no presente estudo; O capítulo 2 é uma revisão intitulada “Xilose uma fonte de carbono para produção de biossurfactante”; No capítulo 3 descreve o potencial de hidrolisados hemicelulósicos do bagaço de malte para a produção de biossurfactante a partir de levedura oleosa, para tanto, o mesmo foi estruturado em introdução, metodologia aplicada para realização dos experimentos, resultados, discussão e conclusão. O capítulo 4 mostra de forma objetiva a conclusão desta tese.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### **2.1 Biossurfactantes: Classificação, Propriedades e Aplicações**

Biossurfactantes ou surfactantes microbianos são compostos de origem microbiana, ou seja, consistem em subprodutos metabólicos de bactérias, fungos e leveduras, os quais são produzidos durante o crescimento dos microrganismos em diferentes fontes de carbono, como carboidratos, hidrocarbonetos, gorduras e óleos (BALAN *et al.*, 2019; GOSWAMI e DEKA, 2019; HENTATI *et al.*, 2019; MARCELINO *et al.*, 2019; PELE *et al.*, 2019; FERREIRA *et al.*, 2020; MOHANTY *et al.*, 2021). Os metabólitos auxiliam no transporte e transposição dos substratos insolúveis através da membrana celular permitindo que os microrganismos consigam crescer em substratos imiscíveis em água (BOGNOLO, 1999; SANTOS *et al.*, 2016).

Conforme a carga iônica, os biossurfactantes podem ser classificados como não-iônicos, catiônicos e aniônicos. Esses tensoativos exibem natureza anfifílica, isto é, apresentam uma porção hidrofóbica (apolar) e uma porção hidrofílica (polar) (BOGNOLO, 1999; LANG, 2002; MAIER, 2003; SANTOS *et al.*, 2016). Devido à natureza anfifílica dos biossurfactantes, esses atuam entre fases fluidas de diferentes graus de polaridades (óleo/água e água/óleo) reduzindo as forças de repulsão entre eles, permitindo que se misturem mais facilmente (BOGNOLO, 1999; SHARMA, 2016).

Os biossurfactantes são classificados de acordo com a sua origem biológica e composição química. Há uma extensa variedade de microrganismos produtores de diferentes tipos de biossurfactantes (Tabela 1). Geralmente os biossurfactantes são divididos em dois grupos com base no peso molecular, sendo eles: os de baixa massa molecular tem maior habilidade para reduzir a tensão superficial (TS) e tensão interfacial (TI) e os de alta massa molecular mostram maior eficiência como agentes estabilizadores de emulsão (Tabela 1) (SHARMA, 2016; FARIQ e YASMIN, 2018). No entanto, todos os biossurfactantes podem reduzir a TS e TI, assim como emulsificar substratos hidrofóbicos.

Tabela 1 - Classificação dos biossurfactantes e microrganismos produtores.

(continua)

Biossurfactantes			Microrganismos	Referências	
Grupo	Subgrupo	Classe			
Baixa massa molecular	Glicolipídios	Ramnolipídios	<i>Pseudomonas</i> sp.	Kaskatepe e Yildiz (2016)	
			<i>P. putida</i> ; <i>P. pachastrella</i>	Kaskatepe <i>et al.</i> (2017)	
			<i>P. aeruginosa</i>	Câmara <i>et al.</i> (2019), Cameotra e Singh (2009), Costa <i>et al.</i> (2010)	
		Soforolipídios	<i>Torulopsis bombicola</i>	Ito e Inoue (1982)	
			<i>T. apicola</i>	Hommel <i>et al.</i> (1987)	
			<i>Candida (Turolopsis) apicola</i>	Hommel <i>et al.</i> (1994)	
			<i>T. petrophilium</i>	Cooper e Paddock (1983)	
			<i>Candida bombicola</i>	Elshafie <i>et al.</i> (2015), Daverey e Pakshirajan (2010), Solaiman <i>et al.</i> (2004), Cavalero e Cooper (2003), Casas e García-Ochoa (1999)	
		Trealolipídios	<i>C. albicans</i>	El-Sheshtawy <i>et al.</i> (2016)	
			<i>Rhodococcus</i> sp.	Bages-Estopa <i>et al.</i> (2018); White <i>et al.</i> (2013)	
			<i>Tsukamurella spumae</i> , <i>T. pseudospumae</i>	Kügler <i>et al.</i> (2014)	
			<i>R. erythropolis</i>	Rapp <i>et al.</i> (1979)	
		Lipopeptídios e lipoproteínas	Cybersan	<i>Mycobacterium fortuitum</i>	Gautier <i>et al.</i> (1992)
				<i>Cyberlindnera saturnus</i>	Balan <i>et al.</i> (2019)
				Aneurinifactina	<i>Aneurinibacillus aneurinilyticus</i>
	Artrofactina		<i>Arthrobacter</i> sp.	Morikawa <i>et al.</i> (1993)	
	Bioelan		<i>Streptomyces</i> sp.	Santos <i>et al.</i> (2019)b	
	Viscosina		<i>P. fluorescens</i>	Alsohim <i>et al.</i> (2014)	
	Serrawetina		<i>Serratia marcescens</i>	Budsabun (2015)	
	Surfactina		<i>C. tropicalis</i>	Ashish e Debnath (Das) (2018)	
			<i>B. subtilis</i>	Nogueira Felix <i>et al.</i> (2019)	
	Subtilisina		<i>B. subtilis</i>	Bernheimer e Avigad (1970)	
	Gramicidina	<i>B. brevis</i>	Marahiel <i>et al.</i> (1979)		
	Polimixina	<i>B. polymyxa</i>	Suzuki <i>et al.</i> (1965)		
	Ácido graxos, lipídios neutros e fosfolipídios	Ácidos graxos	<i>Corynebacterium lepus</i>	Cooper <i>et al.</i> (1979)	
		Lipídios neutros	<i>Nocardia erythropolis</i>	Macdonald <i>et al.</i> (1981)	
		Fosfolipídios	<i>Thiobacillus thiooxidans</i>	Beebe e Umbreit (1971)	

**Tabela 1** - Classificação dos biossurfactantes e microrganismos produtores.  
(conclusão)

Biossurfactantes			Microrganismos	Referências
Grupo	Subgrupo	Classe		
Alta massa molecular	Surfactantes poliméricos	Emulsan	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	Rubinovitz <i>et al.</i> (1982)
			<i>A. venetianus</i>	Castro <i>et al.</i> (2008)
		Biodispesan	<i>A. calcoaceticus</i>	Rosenberg <i>et al.</i> (1988)
		Yansan	<i>Yarrowia lipolytica</i>	Amaral <i>et al.</i> (2006)
		Liposan	<i>C. lipolytica</i>	Cirigliano e Carman (1984)
		Carboidrato-lipídio-proteína	<i>P. fluorescens</i>	Persson <i>et al.</i> (1988)
		Manana-lipídio-proteína	<i>C. tropicalis</i>	Käppeli <i>et al.</i> (1984)
Proteína PA	<i>P. aeruginosa</i>	Hisatsuka <i>et al.</i> (1977)		

Como visto, uma variedade de biossurfactantes são descritos na literatura, os quais apresentam diversidade de estruturas químicas, muitas das quais são conhecidas e outras estão sendo elucidadas. Entre os biossurfactantes, os glicolipídios são bastante estudados (KITAMOTO *et al.*, 2001; EL-SHESHTAWY *et al.*, 2016; JEZIERSKA *et al.*, 2018; KHADEMOLHOSSEINI *et al.*, 2019). Estruturalmente, consistem em uma porção de carboidratos combinados com uma longa cadeia de ácidos graxos. Os glicolipídios mais conhecidos são os ramnolipídios, sofrorolipídios (SLs) e trealolipídios (RIKALOVIC *et al.*, 2015; JEZIERSKA *et al.*, 2018).

Os ramnolipídios são produzidos principalmente pela *P. aeruginosa* (RIKALOVIC *et al.*, 2015; KASKATEPE e YILDIZ 2016; KASKATEPE *et al.* 2017; SOBERÓN-CHÁVEZ *et al.*, 2021) e, são formados por uma ou duas moléculas de ramnose (porção hidrofílica), que é conectado via ligação glicosídica a uma ou duas moléculas de ácido graxo (porção hidrofóbica) (TISO *et al.*, 2018). Essa classe de biossurfactante é muito atrativa, pois podem ser produzidos em meios de cultivo contendo hidrocarbonetos ou carboidratos como única fonte de carbono, e conseguem reduzir a TS e emulsificar hidrocarbonetos (CAMEOTRA e SINGH, 2009; MOUSSA *et al.*, 2014; LOVAGLIO *et al.*, 2015; TISO *et al.*, 2018; BEZERRA *et al.*, 2019).

Os SLs são moléculas bioativas produzidas principalmente pela levedura *C. bombicola* (SOLAIMAN *et al.*, 2004; DAVEREY e PAKSHIRAJAN, 2010; ELSHAFIE *et al.*, 2015; CELLIGOI *et al.*, 2020) são compostas por uma porção hidrofílica, dissacarídeos de sorbose, ligada à uma porção hidrofóbica, constituída por uma longa cadeia de ácido graxos (LANG,

2002; JEZIERSKA *et al.*, 2018; MA *et al.*, 2019), com capacidade de reduzir a TS da água para um valor inferior a 30 mN/m (DEVELTER e LAURYSSSEN, 2010; ELSHAFIE *et al.*, 2015).

Os trealolipídios são compostos por um grupo de carboidratos combinados com grupo de ácido graxos. Diferentemente dos outros glicolipídios, suas porções hidrofóbicas são mais diversas, incluindo ácidos alifáticos e ácidos hidroxilados de cadeia ramificada (ácidos micólicos) com variados comprimentos, sendo que a cadeia hidrofóbica em cada lipídio de trealose são classificadas em mono, di e trimicolatos de trealose não-iônicos e tetra-ésteres de trealose aniônicos e lipídios de succinil-trealose (FRANZETTI *et al.*, 2010; SHARMA, 2016; BAGES-ESTOPA *et al.*, 2018). Esse tipo de biosurfactante tem potencial para reduzir a TS e solubilizar misturas hidrofóbicas (SHARMA, 2016).

Os lipopeptídios ou lipoproteínas apresentam em sua estrutura uma cadeia de ácido graxo combinada com um grupo proteico (MNIF e GHRIBI, 2015). O grupo proteico pode ser neutro ou aniônico, sendo que os aminoácidos geralmente estão arranjados em uma estrutura cíclica (MAIER, 2003). Esse tensoativo é bastante estudado por sua atividade antimicrobiana (RAAIJMAKERS *et al.*, 2010; PEREZ *et al.*, 2017).

O lipopeptídio mais estudado é a surfactina, amplamente relatada como subproduto metabólico do gênero *Bacillus*, a qual é constituída por um ácido graxo em combinação com uma porção peptídica que podem corresponder a um grupo de isoformas, as quais diferem pela composição da porção peptídica, pelo comprimento da cadeia de ácidos graxos e pelo vínculo entre as duas partes. As isoformas contém pelo menos oito dipeptídeos com um número de átomos de carbono entre 13 e 16 como parte do sistema de anéis. Várias isoformas podem ser produzidas pela mesma cepa (SHALIGRAM e SINGHAL, 2010; MNIF e GHRIBI, 2015).

A surfactina é muito potente, pois reduz a TS da água de 72 mN/m para 27 mN/m (YEH *et al.*, 2008). Além disso, apresenta elevada atividade emulsificante de hidrocarbonetos (querosene, hexadecano e diesel), sendo assim, pode ser utilizada para tratamento e recuperação de ambientes contaminados com esses compostos. A surfactina também apresenta atividade antiviral, antifúngica, larvicida e adulticida e remove biofilmes formados por microrganismos patogênicos (GEETHA *et al.*, 2012; SANTOS *et al.*, 2018).

Os fosfolipídios, lipídios neutros e ácidos graxos são moléculas que fazem parte da estrutura celular e apresentam propriedades surfactantes (MAIER, 2003). São produzidos por

leveduras e em grande quantidade por bactérias e podem solubilizar o enxofre ou até mesmo aumentar a solubilidade do hexadecano (ROSENBERG e RON, 1999).

Os biossurfactantes poliméricos são formados por complexos de polissacarídeos ligados a cadeia hidrocarbônica, ou seja, esses polímeros podem possuir carboidratos, lipídios, proteínas, sendo que em alguns casos, o polímero pode ser uma mistura desses compostos, exibindo propriedades de emulsificação (MAIER, 2003). O emulsan é o biossurfactante polimérico mais estudado e caracterizado, é composto por um heteropolissacarídeo ligado a ácidos graxos por meio de uma ligação éster com ligações amidas e uma porção proteica (DESAI e BANAT, 1997; PANILAITIS *et al.*, 2007; CASTRO *et al.*, 2008; VANDANA e SINGH, 2018).

É notório que os biossurfactantes apresentam variação na composição química, a qual é devido a estes serem produzidos por diferentes espécies de microrganismos a partir de diversas fontes de carbono. Também é evidente que uma das principais propriedades desses compostos anfífilos é a redução da TS e TI, entre fluidos com diferentes graus de polaridade. Esses tensoativos biológicos reduzem a TS da água de 72 mN/m para uma taxa inferior a 30 mN/m (LIMA *et al.*, 2017; SOARES DA SILVA *et al.*, 2017; SANTOS *et al.*, 2018) e a TI entre a água/n-alcenos de 40 mN/m para 1 mN/m (SYLDATK *et al.*, 1985).

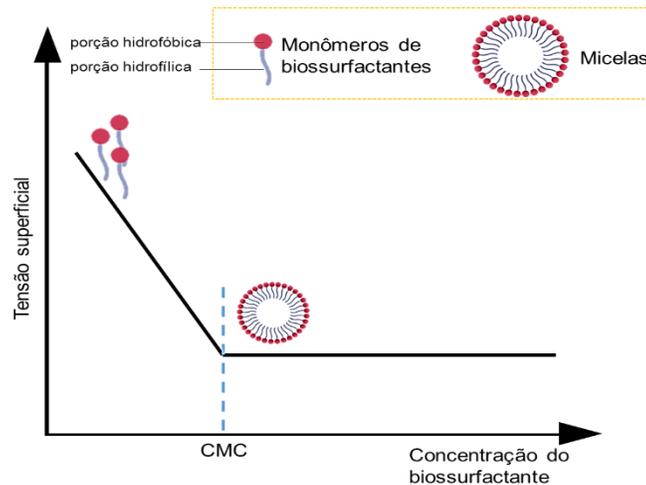
A redução da TS depende da concentração do biossurfactante no meio aquoso, pois a TS reduz com o aumento da concentração do biossurfactante, isto é, até que a concentração micelar crítica (CMC) seja obtida (WHANG *et al.*, 2008; SHARMA, 2016). A CMC corresponde à concentração mínima de surfactante necessária para redução máxima da TS, ou seja, surfactantes eficientes apresentam baixa CMC. A CMC depende da estrutura química do surfactante, pH, temperatura e força iônica do solvente (DESAI e BANAT, 1997; SHARMA, 2016; MOLDES *et al.*, 2020).

Quando a CMC é atingida os monômeros do biossurfactante se associam formando as micelas, vesículas ou lamelas (Figura 1) (NGUYEN *et al.*, 2008). A partir da formação de micelas a TS se manterá constante ou a mudança é muito pequena (WHANG *et al.*, 2008). Portanto, quando a TS é reduzida ocorre o aumento da solubilidade e da biodisponibilidade de substâncias orgânicas lipofílicas (TRIPATHY e MISHRA, 2016).

Para ser considerado um bom biossurfactante, esses compostos devem apresentar eficiência a qual é mensurada pelos baixos valores de CMC (DESAI e BANAT, 1997; SHARMA, 2016). Em geral, os biossurfactantes são mais eficientes quando a sua CMC é de

aproximadamente 10 a 40 vezes menor que o dos surfactantes derivados do petróleo (DESAI e BANAT, 1997; NESMĚRÁK e NĚMCOVÁ, 2006; ANJUM *et al.*, 2016; SHARMA, 2016).

**Figura 1** - Relação entre a concentração de biossurfactante, tensão superficial e formação de micelas.



Fonte: Autor

Os biossurfactantes também podem exibir estabilidade em condições físico-químicas variadas, como tolerância à temperatura, salinidade e pH. A estabilidade dos biossurfactantes produzidos por leveduras e bactérias é de extrema importância para que esses tensoativos possam ser aplicados em diferentes campos da indústria.

Horowitz *et al.* (1990) relataram que o lipopeptídeo produzido por *Bacillus licheniformis* 86 apresenta termoestabilidade quando submetido à temperatura de 120 °C por 20 min, e é estável em pH até 13, porém a sua atividade é reduzida em pH < 4,0.

Nitschke e Pastore (2006) comprovaram que o biossurfactante produzido pelo *Bacillus subtilis* apresenta estabilidade após exposição a altas temperaturas (100 °C por 2 h ou a 121 °C por 15 min), nessas condições a atividade superficial foi mantida e, o biossurfactante pode ser armazenado por até 6 meses, sob baixa temperatura (-18 °C). Os autores ainda reportaram que a tensoatividade não se altera na faixa de pH variando de 5 a 11.

Nogueira Felix *et al.* (2019) reportaram que a surfactina produzida pelo *Bacillus subtilis* também apresenta estabilidade em diferentes faixas de pH (6,0 a 8,0), temperatura (4 a 121 °C) e salinidade (2,5% a 10% NaCl). Singh e Tiwary (2016) mostraram que a *Pseudomonas*

*otitidis* sintetiza glicolipídios termoestável (80 - 100 °C), e com estabilidade em meio ácido (pH 3 - 11) e diferentes concentrações de salinidade (2,0 a 10,0% de NaCl).

Biossurfactantes produzidos por leveduras também apresentam excelente estabilidade em diferentes condições como relatado por Derguine-Mecheri *et al.* (2021), os autores descreveram que o biossurfactante produzido pela levedura *R. mucilaginosa* apresentou estabilidade em condições extremas de pH (2 a 12), temperatura (4 a 100 °C) e salinidade (1 a 10%).

De acordo com Bognolo (1999), Ferreira *et al.*, (2020), Nitschke e Pastore (2006) os biossurfactantes também podem ser estáveis em concentrações elevadas de NaCl (10% a 20%) diferentemente dos surfactantes convencionais que são inativados nessas condições, pois soluções de 2 - 3% do sal é suficiente para inativá-los.

Como visto, devido composição bioquímica os biossurfactantes apresentam diferentes propriedades tornando-se uma alternativa aos surfactantes sintéticos; sendo assim estes podem ser aplicados em várias áreas da indústria. A maior área para aplicação dos biossurfactantes é a indústria petrolífera, onde são empregados na produção de petróleo ou em formulações de óleos lubrificantes. Além disso, em caso de acidentes como derramamento de óleos em oceanos, estes podem aumentar a biodegradação dos hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, os quais são os principais compostos dos óleos de origem petróleo (MAKKAR e ROCKNE, 2003; NIKOLOVA e GUTIERREZ, 2021).

Como os biossurfactantes apresentam atividade antimicrobiana, podem ser usados pela indústria agrícola para remoção de fitopatógenos. Como exemplo, os ramnolipídios inibem patógenos que adquiriram resistência aos pesticidas químicos e podem estimular a imunidade das plantas, ocasionando a redução de infecção por patógenos (SACHDEV e CAMEOTRA, 2013). Os ramnolipídios também apresentam propriedades antitumorais em linhas de células de câncer humano HL-60, SKW-3, BV-173 e JMSU-1, onde a concentração de inibição ( $IC_{50}$ ) eficiente para inibir essas células foram de 67  $\mu$ M, 54  $\mu$ M, 50  $\mu$ M e 60  $\mu$ M, respectivamente (CHRISTOVA *et al.* 2013). Rahimi *et al.* (2019) relataram que uma  $IC_{50}$  de 28,87  $\mu$ g/mL e 31,00  $\mu$ g/mL de mono- e di-ramnolipídios inibem a proliferação de células do câncer de mama humano MCF-7.

Na indústria de alimentos, os biossurfactantes podem ser usados como emulsificantes ou como solubilizantes (RANASALVA *et al.*, 2014; SHARMA, 2016). Na área médica, podem ser aplicados como inibidores de microrganismos patogênicos, pois estes aderem as superfícies

sólidas ou em locais infeccionados e combatem a colonização dos patógenos (RODRIGUES *et al.*, 2006). Por exemplo, uma solução 5,0 µg de surfactina utilizada para revestir cateteres uretrais reduziu a quantidade de biofilme formada por *Salmonella entérica* serovar *typhimurium* (MIRELES *et al.*, 2001). A surfactina também apresentou forte citotoxicidade para as linhas de células de câncer de mamífero HCT-15, Hep2-C, L-132, MCF-7 e NIH/3T3, inibindo 80,1%, 76,09%, 88,56%, 78,91% e 77,84% do câncer, respectivamente (MEENA *et al.*, 2020).

## **2.2 Subprodutos Agroindustriais para Produção de Biosurfactante**

Os biosurfactantes apesar de serem moléculas muito versáteis não são economicamente competitivos com os surfactantes sintéticos, devido ao elevado custo de produção (MAKKAR *et al.*, 2011; MOHANTY *et al.*, 2021). Portanto, para que os biosurfactantes possam competir no mercado de surfactantes faz-se necessário a redução dos custos de produção. Uma alternativa de redução é a utilização de substratos baratos e abundantes.

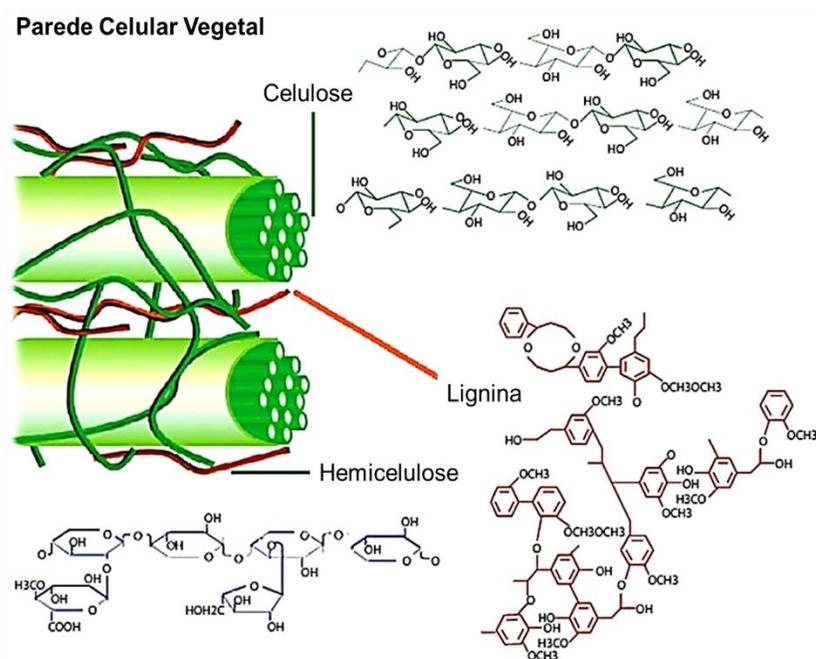
O uso de substratos alternativos pode reduzir os custos de produção dos biosurfactantes em 50% no valor do produto (JOSHI e DESAI, 2010). Outra alternativa está voltada para a otimização das condições de cultivo e nos processos de recuperação mais econômicos (SAHARAN *et al.*, 2011; SINGH *et al.*, 2019).

Uma variedade de substratos tais como casca de banana (CHOOKLIN *et al.*, 2014), casca de laranja (GEORGE e JAYACHANDRAN, 2009), manipueira (NITSCHKE e PASTORE, 2006), casca de arroz (OJE *et al.*, 2016), bagaço de cana (MARCELINO *et al.*, 2019), casca e farelo de arroz (CASTIGLIONI *et al.*, 2009), vinhaça, óleo de fritura (OLIVEIRA e GARCIA-CRUZ, 2013), resíduo de poda de vinhedo (VECINO *et al.*, 2017), águas residuais de cana-de-açúcar (SANTOS *et al.*, 2019a), soro de queijo, resíduos de pescado (AGUIAR *et al.*, 2018), melação de cana, licor de maceração de milho (GUDIÑA *et al.*, 2016), casca de batata (DAS e KUMAR, 2018), palha de trigo (PRABU *et al.*, 2015), palha e casca de arroz, farelo de milho e soja (ZHU *et al.*, 2013) já foram estudados para produção de biosurfactantes.

Como visto, as biomassas lignocelulósicas estão sendo exploradas para a produção de biosurfactantes, pois são ricas em carboidratos que podem ser utilizados pelos microrganismos como fonte de carbono. As biomassas são compostas principalmente por fibras da celulose, hemicelulose e lignina que estão associados entre si, em concentrações variadas, constituindo o complexo celular da biomassa vegetal (Figura 2). A concentração das

fibras de celulose, hemicelulose e lignina em biomassa usadas na produção de biossurfactante está descrito na Tabela 2.

**Figura 2** - Esquema da estrutura da lignocelulose mostrando frações de celulose, hemicelulose e lignina.



Fonte: Bamdada, Hawboldta e Macquarrie (2018).

**Tabela 2** - Composição (%) de biomassas lignocelulósicas usadas na produção de biossurfactante.

Biomassa lignocelulósica	Celulose (%)	Lignina (%)	Hemicelulose (%)	Referências
Bagaço de uva	10,8	-	50,9	Portilla-Rivera <i>et al.</i> (2008)
Cascas de avelã	23,7	-	40,8	
Cascas de nozes	23	-	37,4	
Carnaúba	23,9	32,7	11,8	Magalhães <i>et al.</i> (2018)
Pedúnculo caju	21,0	45,8	11,5	
Resíduo de coco verde	36,2	30,2	23,7	
<i>Moringa oleifera</i>	12,0	5,3	14,6	
Bagaço de cana	39,2	18,8	25,2	
Casca de farelo de cevada	23,0	21,4	-	Moldes <i>et al.</i> (2007)
Broto de videira	34,1	12,8	-	
Espiga de milho	31,7	30,9	-	
Chips de <i>Eucalyptus globulus</i>	46,3	16,6	-	
Palha de arroz	42,2	4,4	21,3	Ni'Matuzahroh <i>et al.</i> (2019)
Resíduo da poda de vinhedo	34,0	27,0	19,0	Vecino <i>et al.</i> (2017)

### **2.3 Composição e Estrutura Química das Biomassas Lignocelulósicas**

As biomassas lignocelulósicas são constituídas principalmente de celulose, hemicelulose e lignina, onde a celulose forma um esqueleto cercado por hemicelulose e lignina (ANWAR *et al.*, 2014). A celulose, principal constituinte da parede celular vegetal, é um polímero linear de alto peso molecular, composto por milhares de unidades de monômeros  $\beta$ -D-glicopiranosose, unidas por ligação glicosídica  $\beta$ -1 $\rightarrow$ 4 (LACA *et al.*, 2019). A celulose está disposta em fibras compostas por microfibrilas, ordenadas paralelamente e ligadas por ligações de hidrogênio, que confere rigidez a estrutura, e são responsáveis por organizar as fibrilas, estruturas altamente ordenadas que são cercadas por uma matriz de hemicelulose e lignina (SUN *et al.*, 2004, SUN *et al.*, 2005).

As microfibrilas de celulose têm regiões altamente cristalinas e regiões amorfas menos ordenadas. A celulose cristalina é menos solúvel e menos degradável (ANWAR *et al.*, 2014).

Embora a celulose funcione como o componente rígido e de sustentação da parede celular, a rigidez da microfibrila de celulose é reforçada dentro de uma matriz de hemicelulose e lignina.

A hemicelulose é um heteropolímero linear com cadeias altamente ramificadas, composto tipicamente por diferentes açúcares hexoses (D-glicose, D-manose, L-ramnose, L-fucose, D-galactose, L-galactose), pentoses (D-xilose e L-arabinose) e ácido (D-ácido glucurônico) ligados por ligações glicosídicas de diferentes tipos  $\alpha$ - ou  $\beta$ - (1 $\rightarrow$ 2, 1 $\rightarrow$ 3, 1 $\rightarrow$ 4, 1 $\rightarrow$ 6) (LACA *et al.*, 2019).

Dependendo do resíduo de açúcar na cadeia principal, a hemicelulose apresenta diferentes classificações como por exemplo xilanos, mananos, glucanos, glucoronoxilanos, arabinoxilanos, glucomananos, galactomananas, galactoglucomananas,  $\beta$ -glucanos e xiloglucanos. Diferentemente da celulose, as hemiceluloses são amorfas e não contém regiões cristalinas, sendo assim são mais susceptíveis a hidrólise química sob condições mais brandas (PALMQVIST e HAHN-HÄGERDAL, 2000; ANWAR *et al.*, 2014).

A lignina é um polímero ramificado de composto aromático, ou seja, tem estrutura formada por unidades de *p*-propilfenol, com substituintes metoxila no anel aromático, unidas por ligação tipo éter, que estabelecem ligações cruzadas entre si. É composta por diferentes precursores de monômeros: álcool cumárico, álcool coniferílico e álcool sinapílico (ZHANG, 2019).

A lignina está intimamente ligada à celulose e hemicelulose e sua principal função é fornecer rigidez e coesão à parede celular da planta, conferir a impermeabilidade à água aos vasos do xilema e formar uma barreira físico-química contra ao ataque de patógenos. Esse polímero é extremamente resistente à degradação química e enzimática (PALMQVIST e HAHN-HÄGERDAL, 2000; ZHANG, 2019).

#### **2.4 Hidrolisados Hemicelulósicos**

A biomassa lignocelulósica pode ser submetida a diferentes tratamentos, sendo eles térmicos (RIOS-GONZÁLEZ *et al.*, 2017; CONRAD e SMIRNOVA, 2020), enzimáticos (FORSSELL *et al.*, 2008; PAZ *et al.*, 2019) e químicos (EL-BATAL e KHALAF, 2004; SILVA *et al.*, 2010; ROJAS-CHAMORRO *et al.*, 2018; TIZAZU e MOHOLKAR, 2018), os quais irão ajudar a degradar a estrutura da celulose e hemicelulose liberando açúcares que podem ser fermentados microbianamente para produção de compostos de valor agregado (TAN e LI, 2018; LACA *et al.*, 2019; MOHANTY *et al.*, 2021).

A hemicelulose pode ser facilmente degradada por meio dos processos de hidrólises utilizando ácidos diluídos em condições moderadas, pois como a hemicelulose é amorfa, condições menos severas podem auxiliar na liberação de açúcares de sua estrutura, diferentemente da celulose que são necessárias condições muito mais severas para ser hidrolisada (ANWAR *et al.*, 2014; LACA *et al.*, 2019).

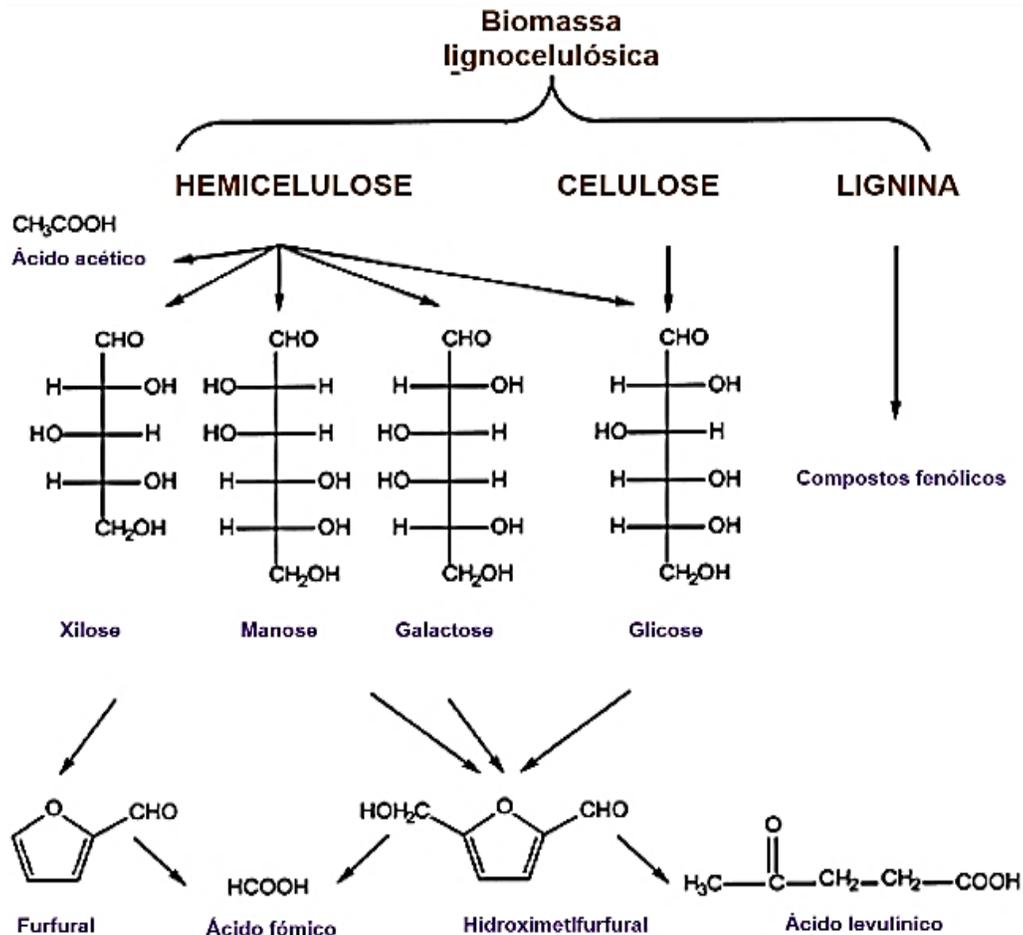
Diferentes ácidos são utilizados para a hidrólise de uma variedade de biomassas. Devido a maior eficiência para liberação de açúcares fermentescíveis e ao baixo custo, o ácido sulfúrico diluído (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) é o mais usado no tratamento de biomassa lignocelulósica, para obtenção de monossacarídeos (ROBERTO *et al.*, 2003; TIZAZU e MOHOLKAR, 2018; LACA *et al.*, 2019; MOHANTY *et al.*, 2021).

O processo de hidrólise ácida não produz somente açúcares, mas também pode ocorrer a formação de subprodutos derivados do furano (furfural e hidroximetilfurfural), compostos fenólicos, ácido levulínico e ácido acético (Figura 3) (PALMQVIST e HAHN-HÄGERDAL, 2000; KUMAR e SHARMA, 2017; DELBECQ *et al.*, 2018).

Portanto, deve-se escolher as condições adequadas para realização da hidrólise da biomassa lignocelulósica, pois durante o processo de fermentação, dependendo da concentração em que se encontram esses subprodutos da hidrólise ácida podem afetar o crescimento microbiano e a conversão dos açúcares em produtos de valores agregados (ROBERTO *et al.*, 2003; ANWAR *et al.*, 2014).

Como as frações hemicelulósicas são ricas em açúcares e podem ser obtidas de diferentes biomassas lignocelulósicas, muitos estudos têm sido direcionados na conversão de açúcares hemicelulósicos para produção de etanol e xilitol. Hidrolisados hemicelulósicos de palha de arroz, palha de trigo e palha de milho podem ser utilizados como meio de fermentação para produção de etanol pela *Pichia stipitis* NRRL Y-7124 e por leveduras recombinantes (NIGAM, 2001; SILVA *et al.*, 2010; ZHAO e XIA, 2010; LIN *et al.*, 2012). O xilitol também pode ser produzido a partir de hidrolisados hemicelulósicos de diferentes biomassas por leveduras do gênero *Candida* (EL-BATAL e KHALAF, 2004; LI *et al.*, 2012; MISRA *et al.*, 2013).

**Figura 3** - Subprodutos formados durante o processo de hidrólise de biomassas lignocelulósicas.



Fonte: Palmqvist e Hahn-Hägerdal (2000).

No entanto, na literatura há poucos relatos sobre produção de biossurfactantes a partir de hidrolisados hemicelulósicos. Portilla-Rivera *et al.* (2008) relataram a produção de biossurfactante a partir de hidrolisados hemicelulósicos da casca de avelã, bagaço de uva e de nozes, e tendo o *Lactobacillus pentosus* como agente fermentador. Marcelino *et al.* (2017; 2019) mostraram a produção de biossurfactante usando hidrolisados hemicelulósicos do bagaço de cana por diferentes espécies de leveduras.

### **2.5 Bagaço de Malte: Uma Biomassa Lignocelulósica**

A cevada (*Hordeum vulgare vulgare* L.) é um grão de cereal altamente adaptável produzido em climas que variam de subártico a subtropical. Esse cereal é a principal matéria-

prima empregada na elaboração de cerveja (GUPTA *et al.*, 2010). Para a cevada ser usada no processo de fabricação da cerveja, o grão é submetido a um processo de maltagem, para elevar o conteúdo enzimático dos grãos. No entanto, antes da maltagem, a cevada passa por período de dormência (4 a 6 semanas), após este período a cevada é maltada (KUNZE, 2004; GUPTA *et al.*, 2010).

O malteamento é realizado em três etapas: (1) maceração, (2) germinação e (3) secagem. Durante o processo de maceração, os grãos de cevada são colocados em tanques contendo água, com temperatura entre 5 °C a 18 °C, por aproximadamente dois dias, nesse processo o teor de umidade do grão atinge 48%, a água do tanque é trocada a cada 6 ou 8 horas e descartada (KUNZE, 2004; MUSSATTO *et al.*, 2006), esse processo de hidratação do grão de cevada é necessário para que se tenha um malteamento de qualidade (GUPTA *et al.*, 2010).

Para finalizar a etapa de maceração, a cevada é transportada para um vaso de germinação, a qual fica mantida em contato com uma corrente de ar mantendo a temperatura entre 15 °C a 21 °C. Nessa etapa, ocorre uma série de degradações enzimáticas que modificam a estrutura do endosperma da cevada, depois de seis ou sete dias, o endosperma é totalmente modificado (KUNZE, 2004; MUSSATTO *et al.*, 2006; GUPTA *et al.*, 2010).

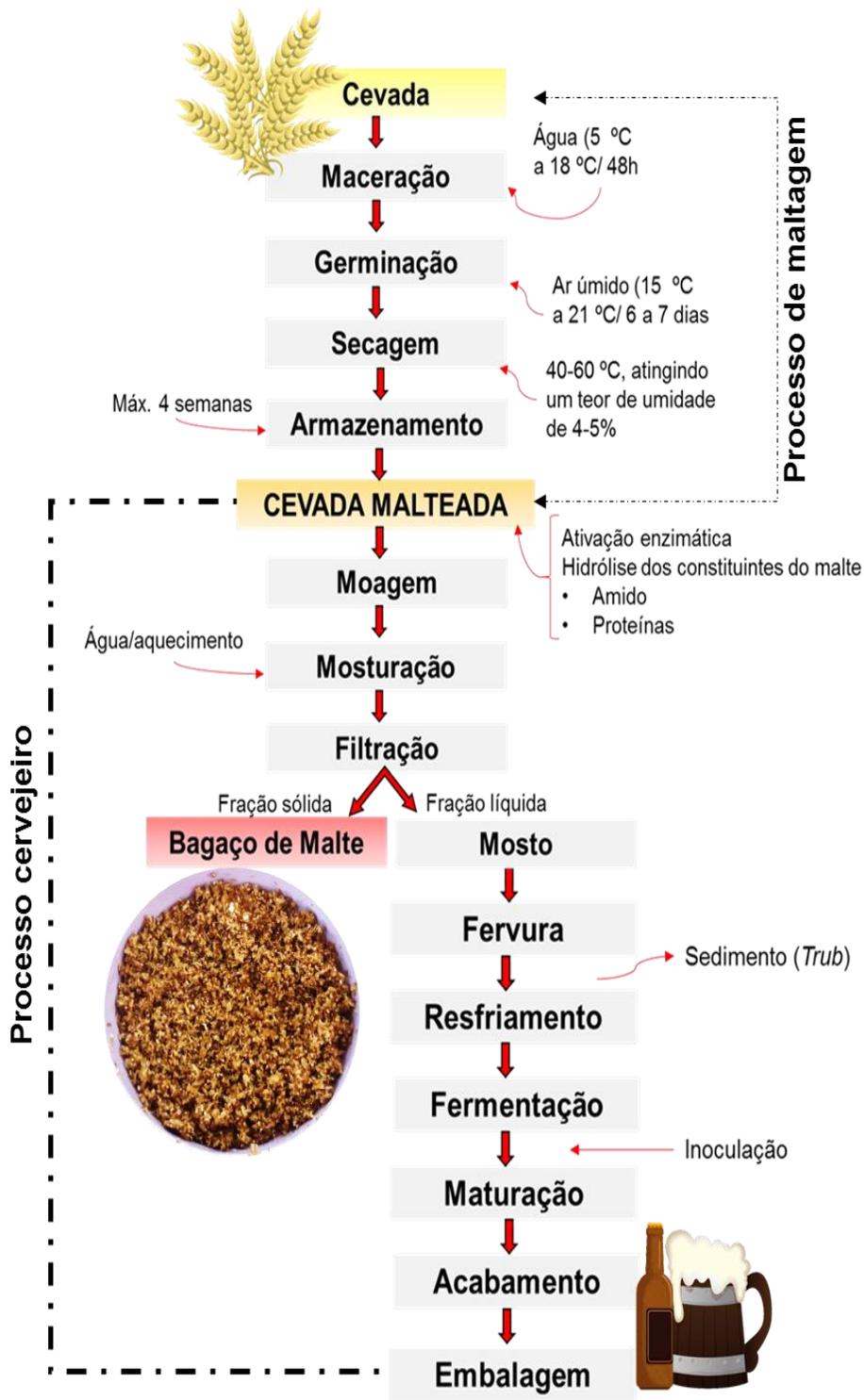
A cevada maltada é seca a 40 - 60 °C, atingindo um teor de umidade de 4 - 5%, esse procedimento é realizado para evitar a formação de aromatizante e contaminação microbiana. Após a secagem o malte é armazenado no máximo por 4 semanas. Depois desse período a cevada maltada moída é misturada com água. A temperatura da água é aumentada gradualmente de 37 °C até atingir 78 °C, para promover a hidrólise enzimática dos constituintes do malte como amido e proteínas. O amido é convertido em maltose e dextrina, as proteínas em polipeptídios e aminoácidos. Essa conversão enzimática é denominada de esmagamento, o qual produz um líquido que passa pelo processo de filtração. O filtrado (mosto) é usado para produção de cerveja e a fração sólida insolúvel é conhecida como bagaço de malte (KUNZE, 2004; MUSSATTO *et al.*, 2006; MUSSATTO, 2014; WEN *et al.*, 2019). Na Figura 4 apresenta-se um esquema simplificado da produção do BM.

O BM é um resíduo lignocelulósico, constituído principalmente pelas cascas de cevada malteada com partes do pericarpo e revestimento das sementes (LYNCH *et al.*, 2016). A celulose, hemicelulose e lignina são os principais componentes do bagaço. Esse resíduo é

rico em proteínas, açúcares, minerais e lipídios (MUSSATTO e ROBERTO, 2006; FORSELL *et al.*, 2008; XIROS *et al.*, 2008; WHITE *et al.*, 2008; PAZ *et al.*, 2019).

No Brasil, 85% do total de resíduos gerados durante o processo de fabricação da cerveja pelas agroindústrias cervejeiras corresponde ao BM (LYNCH *et al.*, 2016). A produção mundial de cerveja em 2018 atingiu 191 bilhões de litros de cerveja. O Brasil é o terceiro maior produtor de cerveja no ranking mundial, pois o país produz cerca de 14,13 bilhões de litros de cerveja, ficando atrás apenas da China e dos Estados Unidos, que produzem 38,92 e 21,46 bilhões de litros de cerveja, respectivamente (BEER SECTOR IN BRAZIL, 2020). De acordo com Mussatto *et al.* (2008a) para cada 100 litros de cerveja produzidos é gerado 20 Kg de BM.

**Figura 4** - Esquema simplificado da produção de bagaço de malte a partir da cevada natural.



Fonte: Autor

O BM apresenta elevado teor de umidade (72 - 85%), tornando-o muito susceptível a deterioração o que inviabiliza seu armazenamento (BUFFINGTON, 2014; LYNCH *et al.*, 2016; ARRANZ *et al.*, 2018). Além disso, essa biomassa é vendida aproximadamente por R\$ 75,00 a tonelada dependendo da região, e atualmente ela é destinada como ração para animais, no entanto, o uso incorreto na alimentação dos animais pode provocar neurotoxicose, acidose ruminal e botulismo (BRUST *et al.*, 2015). Devido ao BM ser facilmente contaminado por fungos e micotoxinas que causam risco para saúde animal (GONZALEZ PEREYRA *et al.*, 2011; MASTANJEVIĆ *et al.*, 2019), além disso, a oferta supera a demanda, e esse fator impulsiona a busca por novas alternativas para o uso dessa biomassa.

Esse resíduo é rico em monossacarídeos que podem ser liberados da sua estrutura por meio do processo de hidrólise (MUSSATTO e ROBERTO, 2006). Os açúcares podem ser purificados ou fermentados por microrganismos para produção de etanol, xilitol, ácidos orgânicos, aminoácidos, vitaminas, butanodiol (MUSSATTO e ROBERTO, 2005; WHITE *et al.*, 2008; XIROS e CHRISTAKOPOULOS, 2009; PLAZA *et al.*, 2017; ROJAS-CHAMORRO *et al.*, 2018).

O BM também foi estudado como um meio para o crescimento de microrganismos para fins de produção de enzimas:  $\beta$ -xilosidase,  $\alpha$ -L-arabinofuranosidase,  $\alpha$ -amilase, xilanase, celulasas e hemicelulase (MANDALARI *et al.*, 2008; GRIGOREVSKI-LIMA *et al.*, 2009; TERRASAN *et al.*, 2010; HASHEMI *et al.*, 2011; XIROS e CHRISTAKOPOULOS, 2012).

Assim, o BM pode ser uma fonte de carbono alternativa para produção de biossurfactante principalmente por leveduras, tendo em vista que esses microrganismos conseguem metabolizar diferentes fontes carbono. Além disso, é de extrema relevância o desenvolvimento pesquisas voltadas para valorização e aproveitamento dessa biomassa que pode ser utilizada para gerar bioprodutos e reduzir seu impacto no ambiente.

Diferentes espécies de leveduras são estudadas para produção de biossurfactantes a partir de vários substratos, principalmente as pertencentes aos gêneros *Candida* e *Pseudozyma*, produzindo principalmente soforolipídios e manosileritriol lipídios, respectivamente (Tabela 3). No entanto, são necessários mais estudos voltados para a produção de biossurfactante por espécies do gênero *Rhodotorula*, as quais ainda são pouco estudadas quanto ao potencial para produção destes tensoativos (Tabela 3).

**Tabela 3** -Substratos testados para produção de biossurfactante pelas leveduras.

(continua)

Biossurfactante	Fonte de carbono	Microrganismo	Referências
Lipoproteína	Licor e soro de leite	<i>C. glabrata</i>	Lima <i>et al.</i> (2017)
Manoproteína	Lactose	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	Lukondeh <i>et al.</i> , (2003)
Ácido graxo	Óleo de milho	<i>C. ingens</i>	Amézcuca-Vega <i>et al.</i> (2007)
Poliois-lipídios	Glicose	<i>Rhodotorula glutinis</i>	Yoon e Rhee (1983)
Lipopeptídio	Glicose e hidrocarboneto	<i>C. tropicalis</i>	Ashish e Debnath (2018)
Glicolipídios	Óleo de amendoim	<i>C. sphaerica</i>	Sobrinho <i>et al.</i> (2008)
	Gordura animal e licor de maceração de milho	<i>C. lipolytica</i>	Santos <i>et al.</i> (2014)
	Óleo de amendoim	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Dhivya <i>et al.</i> (2014)
	Óleo de soja	<i>Pseudozyma</i> sp.	Sajna <i>et al.</i> (2013)
	Hidrolisado do bagaço da cana-de-açúcar	<i>Scheffersomyces stipitis</i>	Marcelino <i>et al.</i> (2017)
	Glicose e azeite	<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	Souza <i>et al.</i> (2017)
Soforolipídios	Glicose e óleo de milho	<i>C. bombicola</i>	Elshafie <i>et al.</i> (2015)
	Glicose	<i>R. babjevae</i>	Sen <i>et al.</i> (2017)
	Glicose e óleo	<i>C. bombicola</i>	Casas e García-Ochoa, (1999)
	Glicose	<i>C. bombicola</i>	Cavalero e Cooper (2003)
		<i>Candida</i> spp.	Gaur <i>et al.</i> (2019)
	Resíduos de alimentos	<i>Starmerella bombicola</i>	Kaur <i>et al.</i> (2019)
	Óleo de fritura	<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	Camargo <i>et al.</i> (2018)
	Óleo de colza	<i>Wickerhamiella domercqiae</i>	Chen <i>et al.</i> (2006)
Manosileritriol lipídios	Óleo de soja	<i>P. rugulosa</i>	Morita <i>et al.</i> (2006)
		<i>Candida</i> sp.	Kim <i>et al.</i> (2006)
		<i>P. aphidis</i>	Rau <i>et al.</i> (2005)
		<i>P. aphidis</i>	Fan <i>et al.</i> (2014)
		<i>Kurtzmanomyces</i> sp.	Kakugawa <i>et al.</i> (2002)
		<i>P. fusiformata</i> , <i>P. parantarctica</i> , <i>P. tsukubabaensis</i>	Morita <i>et al.</i> (2007)
Complexo carboidrato-proteína-lipídio	Glicose	<i>C. lipolytica</i>	Sarubbo <i>et al.</i> (2001)
		<i>Yarrowia lipolytica</i>	Amaral <i>et al.</i> , (2006)
	n-alcanos e petróleo bruto	<i>Y. lipolytica</i>	Zinjarde e Pant, (2002)

**Tabela 3** - Substratos testados para produção de biossurfactante pelas leveduras.

Biossurfactante	Fonte de carbono	Microrganismo	Referências
Não determinado	Glicerina bruta e suco de maçã de caju	<i>Y. lipolytica</i>	Fontes <i>et al.</i> (2012)
	Resíduos de frituras de vegetais e licor de maceração do milho	<i>R. glutinis</i>	Max <i>et al.</i> (2012)
	Resíduos da produção de sorvete, aguardente de milho e manipueira		Ribeiro <i>et al.</i> (2012a)
	Glicose	<i>P. hubeiensis</i> <i>P. antarctica</i> , <i>P. aphidis</i>	Sari <i>et al.</i> (2014)
	Manipueira	<i>P. tsukubaensis</i>	Cavalcante Fai <i>et al.</i> (2015)
	Óleo de amendoim residual e licor de milho, óleo de motor	<i>C. sphaerica</i>	Chaprão <i>et al.</i> (2015)
	Glicose, sacarose, óleo de soja, palma e de coco	<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	Dejwatthanakomol <i>et al.</i> (2016)
Óleo de soja ou glicerol	<i>C. tropicalis</i>	Accorsini <i>et al.</i> (2012)	

### **2.6 Levedura Oleaginosa: *Rhodotorula mucilaginosa***

*Rhodotorula mucilaginosa* é um basidiomiceto (Figura 5), considerada como patógeno oportunista em humanos, e apesar de ser considerado como patogênica (JARROS *et al.*, 2020), essa levedura é de grande interesse para indústria, pois produz metabolitos interessantes como carotenoides, ácidos graxos, lipídios (COSTA *et al.*, 2020), etanol e xilitol a partir hexoses e pentoses (BURA *et al.*, 2012). Também foi relatado o potencial da *R. mucilaginosa* para produção de biomoléculas com atividade surfactantes e bioemulsificantes (KAWAHARA *et al.*, 2013).

Derguine-Mecheri *et al.* (2021) isolaram a *R. mucilaginosa* YBR de um campo petrolífero, e relataram que essa levedura produz biossurfactante utilizando águas residuais de moinhos de azeite como fonte de carbono (2% v/v). O biossurfactante produzido foi capaz de reduzir a TS de 72 para 35 mN/m, além disso, apresentou potencial para aplicação em solos poluídos com hidrocarbonetos, com uma taxa de remoção superior a 95%. *R. mucilaginosa* KUGPP-1 produziu biossurfactante glicoproteico com capacidade de estabilizar a astaxantina, que é um

carotenoide com capacidade antioxidante, que pode ser aplicado na formulação de cosméticos e na indústria de alimentos (KAWAHARA *et al.*, 2013).

A *R. mucilaginosa* também é capaz de assimilar açúcares liberados de biomassas lignocelulósicas, por meio do processo de hidrólise (AYADI *et al.*, 2019). Além dos açúcares, a levedura consegue metabolizar subprodutos de degradação como o ácido acético, furfural e hidroximetilfurfural (HMF), que podem ser tóxicos aos microrganismos (VAJZOVIC *et al.*, 2012).

*R. mucilaginosa* Y-MG1 foi estudada quanto a capacidade de produzir lipídios, que podem ser usados na produção de biodiesel, a partir de hidrolisado lignocelulósico de farelo de trigo. No estudo, também foi mostrado que a levedura assimilou pentose e hexose, bem como glicerol e sacarose (AYADI *et al.*, 2019).

A linhagem *R. mucilaginosa* CCT3892 também foi estudada quanto a síntese de lipídios e carotenoides a partir do melaço de cana-de-açúcar como fonte de carbono. Esses compostos são de interesse para a indústria de alimentos, devido a fonte de energia para o corpo humano, antioxidantes e agentes metabólicos (COSTA *et al.*, 2020).

A capacidade da *R. mucilaginosa* em metabolizar açúcares hemicelulósicos e subprodutos de degradação, demonstra que essa levedura é uma excelente candidata para produzir biossurfactante a partir de hidrolisados hemicelulósicos oriundos do BM.

**Figura 5.** Levedura oleaginosa *Rhodotorula mucilaginosa* LBP5 semeada em ágar Sabouraud.



Fonte: Autor

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- ACCORSINI, F. R.; MUTTON, M. J. R; LEMOS, E. G. M.; BENINCASA, M. Biosurfactants production by yeasts using soybean oil and glycerol as low cost substrate. **Brazilian Journal of Microbiology**. São Paulo, v.43, n.1, p.116–125, Mar.2012. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1517-83822012000100013>.
- AGUIAR, G. P. S.; MARTINS, V. G.; MARTINS, P. C.; BOSCHERO, R. A.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C. Produção de biossurfactantes a partir de diferentes resíduos agroindustriais. **Brazilian Journal of Food Research**. Santa Catarina, v.9, n.2, p.117-135, Nov.2018. DOI: <https://doi.org/10.3895/rebrapa.v9n2.3944>.
- ALSOHIM, A. S.; TAYLOR, T. B.; BARRETT, G. A.; GALLIE, J.; ZHANG, X-X.; ALTAMIRANO-JUNQUEIRA, A. E.; JOHNSON, L. J.; RAINEY, P. B.; JACKSON, R. W. The biosurfactant viscosin produced by *Pseudomonas fluorescens* SBW25 aids spreading motility and plant growth promotion. **Environmental Microbiology**. Reading, v.16, n.7, p.2267–2281, Jul.2014. DOI: <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12469>.
- AMARAL, P. F. F.; SILVA, J. M.; LEHOCKY, M.; BARROS-TIMMONS, A. M. V.; COELHO, M. A. Z.; MARRUCHO, I. M.; COUTINHO, J. A. P. Production and characterization of a bioemulsifier from *Yarrowia lipolytica*. **Process Biochemistry**. Rio de Janeiro, v.41, n.8, p. 1894–1898, Aug.2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2006.03.029>.
- AMÉZCUA-VEGA, C.; POGGI-VARALDO, H. M.; ESPARZA-GARCÍA, F.; RÍOS-LEAL, E.; RODRÍGUEZ-VÁZQUE, R. Effect of culture conditions on fatty acids composition of a biosurfactant produced by *Candida ingens* and changes of surface tension of culture media. **Bioresource Technology**. Madero, v.98, n.1, p.237–240, Jan.2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.11.025>.
- ANJUM, F.; GAUTAM, G.; EDGARD, G.; NEGI, S. Biosurfactant production through *Bacillus* sp. MTCC 5877 and its multifarious applications in food industry. **Bioresource Technology**. Allahabad, v. 213, p. 262–269, Aug.2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.02.091>.
- ANWAR, Z.; GULFRAZ, M.; IRSHAD, M. Agro-industrial lignocellulosic biomass a key to unlock the future bio-energy: A brief review. **Journal of Radiation Research and Applied Sciences**. Rawalpindi, v.7, n.2, p.163–173, Apr.2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jrras.2014.02.003>.
- ARRANZ, J. I.; MIRANDA, M. T.; SEPÚLVEDA, F. J.; MONTERO, I.; ROJAS, C. V. Analysis of drying of brewers' spent grain. **Proceedings**. Badajoz, v.2, n.23, 1467, Nov.2018. DOI: <https://doi.org/10.3390/proceedings2231467>.
- ASHISH; DEBNATH (DAS), M. Application of biosurfactant produced by an adaptive strain of *C.tropicalis* MTCC230 in microbial enhanced oil recovery (MEOR) and removal of motor oil from contaminated sand and water. **Journal of Petroleum Science and Engineering**. Varanasi, v.170, p.40–48, Nov.2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.petrol.2018.06.034>.
- AYADI, I.; BELGHITH, H.; GARGOURI, A.; GUERFALI, M. Utilization of wheat bran acid hydrolysate by *Rhodotorula mucilaginosa* Y-MG1 for microbial lipid production as feedstock for

biodiesel synthesis. **Biomed Research International**. Sfax, v.2019, 3213521, Dec. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1155/2019/3213521>.

BAGES-ESTOPA, S.; WHITE, D. A.; WINTERBURN, J. B.; WEBB, C.; MARTIN, P. J. Production and separation of a trehalolipid biosurfactant. **Biochemical Engineering Journal**. Manchester, v.139, p.85–94, Nov.2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bej.2018.07.006>.

BALAN, S. S.; KUMAR, C. G.; JAYALAKSHMI, S. Aneurinifactin, a new lipopeptide biosurfactant produced by a marine *Aneurinibacillus aneurinilyticus* SBP-11 isolated from Gulf of Mannar: Purification, characterization and its biological evaluation. **Microbiological Research**. Tamil Nadu, v.194, p.1–9, Jan.2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2016.10.005>.

BALAN, S. S.; KUMAR, C. G.; JAYALAKSHMI, S. Physicochemical, structural and biological evaluation of Cybersan (trigalactomargarate), a new glycolipid biosurfactant produced by a marine yeast, *Cyberlindnera saturnus* strain SBPN-27. **Process Biochemistry**. v.80, p.171–180, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2019.02.005>.

BAMDADA, H.; HAWBOLDTA, K.; MACQUARRIE, S. A review on common adsorbents for acid gases removal: Focus on biochar. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**. Canada. v.1, Part.2, p.1705-1720, Jan.2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.05.261>.

BEEBE, J. L.; UMBREIT, W. W. Extracellular lipid of *Thiobacillus thiooxidans*. **Journal of Bacteriology**. New Jersey, v.108, n.1, p.612–614, Oct.1971. DOI: <https://doi.org/10.1128/jb.108.1.612-614.1971>.

BEER SECTOR IN BRAZIL. Flanders Investment & Trade. Vlaanderen in international ondernemen. p.35, 2020. Disponível: [www.flandersinvestmentandtrade.com](http://www.flandersinvestmentandtrade.com). Acesso em 15 de dezembro de 2020.

BERNHEIMER, A. W.; AVIGAD, L. S. Nature and properties of a cytolytic agent produced by *Bacillus subtilis*. **Journal of General Microbiology**. New York, v.61, n.3, p.361–369, June-1970. DOI: <https://doi.org/10.1099/00221287-61-3-361>.

BEZERRA, K. G. O.; GOMES, U. V. R.; SILVA, R. O.; SARUBBO, L. A.; RIBEIRO, E. The potential application of biosurfactant produced by *Pseudomonas aeruginosa* TGC01 using crude glycerol on the enzymatic hydrolysis of lignocellulosic material. **Biodegradation**. Pernambuco, v.30, n.4, p.351–361, Aug.2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10532-019-09883-w>.

BOGNOLO, G. Biosurfactants as emulsifying agents for hydrocarbons. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**. Everberg, v.152, n.1–2, p.41–52, May.1999. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0927-7757\(98\)00684-0](https://doi.org/10.1016/S0927-7757(98)00684-0).

BRUST, L. A. C.; ARAGÃO, A. P.; BEZERRA JR. P. S.; GALVÃO, A.; FRANÇA, T. N.; GRAÇA, F. A. S.; PEIXOTO, P. V. Enfermidades em bovinos associadas ao consumo de resíduos de cervejaria. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.35, n.12, p.956-964, Dez.2015 DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2015001200004>.

BUDSABUN, T. Isolation of biosurfactant producing bacteria from petroleum contaminated terrestrial samples that collected in Bangkok, Thailand. **Procedia - Social and Behavioral Sciences**. Bangkok, v.197, p.1363–1366, July-2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sbspro.2015.07.391>.

BUFFINGTON, J. The economic potential of brewer's spent grain (BSG) as a biomass feedstock. **Advances in Chemical Engineering and Science**. Stockholm, v.4, p.308–318, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.4236/aces.2014.43034>.

BURA, R.; VAJZOVIC, A.; DOTY, S. L. Novel endophytic yeast *Rhodotorula mucilaginosa* strain PTD3 I: production of xylitol and ethanol. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**. Washington, v.39, n.7, p.1003-1011, Jul.2012. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10295-012-1109-x>.

CÂMARA, J. M. D.; SOUSA, M. A. S. B.; BARROS NETO, E. L.; OLIVEIRA, M. C. A. Application of rhamnolipid biosurfactant produced by *Pseudomonas aeruginosa* in microbial-enhanced oil recovery (MEOR). **Journal of Petroleum Exploration and Production Technology**. Rio Grande do Norte, v.9, n.3, p.2333–2341, Fev. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13202-019-0633-x>.

CAMARGO, F. P.; MENEZES, A. J.; TONELLO, P.S.; SANTOS, A. C. A.; DUARTE, I. C. S. Characterization of biosurfactant from yeast using residual soybean oil under acidic conditions and their use in metal removal processes. **FEMS Microbiology Letters**. São Paulo, v.365, n.10, p.1–8, May.2018. DOI: <https://doi.org/10.1093/femsle/fny098>.

CAMEOTRA, S.; SINGH, P. Synthesis of rhamnolipid biosurfactant and mode of hexadecane uptake by *Pseudomonas* species. **Microbial Cell Factories**. Chandigarh, v.8, n.16, p.1-7, Mar.2009. DOI: <https://doi.org/10.1186/1475-2859-8-16>.

CASAS, J.; GARCÍA-OCHOA, F. Sophorolipid production by *Candida bombicola*: medium composition and culture methods. **Journal of Bioscience and Bioengineering**. Madrid, v.88, n.5, p.488–494, 1999. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1389-1723\(00\)87664-1](https://doi.org/10.1016/S1389-1723(00)87664-1).

CASTIGLIONI, G. L.; BERTOLIN, T. E.; COSTA, J. A. V. Produção de biossurfactante por *Aspergillus fumigatus* utilizando resíduos agroindustriais como substrato. **Química Nova**. Rio Grande, v.32, n.2, p.292–295, Fev.2009. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000200005>.

CASTRO, G. R.; PANILAITIS, B.; KAPLAN, D. L. Emulsan, a tailorable biopolymer for controlled release. **Bioresource Technology**. Medford, v.99, n.11, p.4566–4571, July.2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.06.059>.

CAVALCANTE FAI, A. E.; SIMIQUELI, A. P. R.; ANDRADE, C. J.; GHISELLI, G.; PASTORE, G.M. Optimized production of biosurfactant from *Pseudozyma tsukubaensis* using cassava wastewater and consecutive production of galactooligosaccharides: An integrated process. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**. São Paulo, v.4, n.4, p.535–542, Oct.2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2015.10.001>.

CAVALERO, D. A.; COOPER, D. G. The effect of medium composition on the structure and

physical state of sophorolipids produced by *Candida bombicola* ATCC 22214. **Journal of Biotechnology**. Montreal, v.103, n.1, p. 1–41, Jun.2003. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0168-1656\(03\)00067-1](https://doi.org/10.1016/s0168-1656(03)00067-1).

CELLIGOI, M. A. P. C.; SILVEIRA, V. A. I.; HIPÓLITO, A.; CARETTA, T. O.; BALDO, C. Sophorolipids: A review on production and perspectives of application in agriculture. **Spanish Journal of Agricultural Research**. Paraná, v.18, n.3, e03R01, Aug.2020. DOI: <https://doi.org/10.5424/sjar/2020183-15225>.

CHAPRÃO, M. J.; FERREIRA, I. N. S.; CORREA, P. F.; RUFINO, R. D.; LUNA, J. M.; SILVA, E.J.; SARUBBO, L.A. Application of bacterial and yeast biosurfactants for enhanced removal and biodegradation of motor oil from contaminated sand. **Electronic Journal of Biotechnology**. Pernambuco, v.18, n.6, p.471–479, Nov.2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2015.09.005>.

CHEN, J.; SONG, X.; ZHANG, H.; QU, Y. Production, structure elucidation and anticancer properties of sophorolipid from *Wickerhamiella domercqiae*. **Enzyme and Microbial Technology**. Jinan, v.39, n.3, p.501–506, July.2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2005.12.022>.

CHOOKLIN, C. S.; MANEERAT, S.; SAIMMAI, A. Utilization of banana peel as a novel substrate for biosurfactant production by *Halobacteriaceae archaeon* AS65. **Applied Biochemistry and Biotechnology**. Trang, v.173, n.2, p.624–645, May.2014. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12010-014-0870-x>.

CIRIGLIANO, M. C.; CARMAN, G. M. Isolation of a bioemulsifier from *Candida lipolytica*. **Applied and Environmental Microbiology**. New Jersey, v.48, n.4, p.747–50, Oct.1984. DOI: <https://doi.org/10.1128/aem.48.4.747-750.1984>.

CONRAD, M.; SMIRNOVA, I. Two-Step autohydrolysis pretreatment: towards high selective full fractionation of wheat straw. **Chemie Ingenieur Technik**. Germany, v.92, n.11, p.1723–1732, Sept.2020. DOI: <https://doi.org/10.1002/cite.202000056>.

COOPER, D. G.; PADDOCK, D. A. *Torulopsis petrophilum* and surface activity. **Applied and Environmental Microbiology**. Montreal, v.46, n.6, p.1426–1429, Dec.1983. DOI: <https://doi.org/10.1128/aem.46.6.1426-1429.1983>.

COOPER, D. G.; ZAJIC, J. E.; GERSON, D. F. Production of surface-active lipids by *Corynebacterium lepus*. **Applied and Environmental Microbiology**. Ontario, v.37, n.1, p.4–10, Jan.1979. DOI: <https://doi.org/10.1128/aem.37.1.4-10.1979>.

COSTA, W. A.; PADILHA, C. E. A.; OLIVEIRA JÚNIOR, S. D.; SILVA, F. L. H.; SILVA, J.; ANCÂNTARA, M. A.; FERRARI, M.; SANTOS, E. S. Oil-lipids, carotenoids and fatty acids simultaneous production by *Rhodotorula mucilaginosa* CCT3892 using sugarcane molasses as carbon source. **Brazilian Journal of Food Technology**. Rio Grande do Norte, v.23, e2019064, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/1981-6723.06419>.

COSTA, S. G. V. A. O.; NITSCHKE, M.; LÉPINE, F.; DÉZIEL, E.; CONTIERO, J. Structure, properties and applications of rhamnolipids produced by *Pseudomonas aeruginosa* L2-1 from

cassava wastewater. **Process Biochemistry**. São Paulo, v.45, n.9, p.1511–1516, Sept.2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2010.05.033>.

DAS, A. J.; KUMAR, R. Utilization of agro-industrial waste for biosurfactant production under submerged fermentation and its application in oil recovery from sand matrix. **Bioresource Technology**, Vidya Vihar, v.260, p.233–240, Jul.2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.03.093>.

DAVEREY, A.; PAKSHIRAJAN, K. Sophorolipids from *Candida bombicola* using mixed hydrophilic substrates: Production, purification and characterization. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. Assam, v.79, n.1, p.246–253, Aug.2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2010.04.002>.

DEJWATTHANAKOMOL, C.; ANUNTAGOOL, J.; MORIKAWA, M.; THANIVAVARN, J. Production of biosurfactant by *Wickerhamomyces anomalus* PY189 and its application in lemongrass oil encapsulation. **Scienciasia**. Bangkok, v.42, n.4, p.252-258, 2016. DOI: <https://doi.org/10.2306/scienceasia1513-1874.2016.42.252>.

DELBECQ, F.; WANG, Y.; MURALIDHARA, A.; OUARDI, K. E. L.; MARLAIR, G.; LEN, C. Hydrolysis of hemicellulose and derivatives - A review of recent advances in the production of furfural. **Frontiers in Chemistry**. Compiègne, v.6, p.1–29, May.2018. DOI: <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00146>.

DESAI, J. D.; BANAT, I. M. Microbial production of surfactants and their commercial potential. Microbiology and molecular biology reviews. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**. Vadodara, v.61, n.1, p.47–64, Mar.1997. DOI: <https://doi.org/10.1128/membr.61.1.47-64.1997>.

DEVELTER, D. W. G.; LAURYSSSEN, L. M. L. Properties and industrial applications of sophorolipids. **European Journal of Lipid Science and Technology**. Malle, v.112, n.6, p.628–638, June.2010. DOI: <https://doi.org/10.1002/ejlt.200900153>.

DHIVYA, H.; BALAJI, S.; MADHAN, R.; AKILA, S. Production of amphiphilic surfactant molecule from *Saccharomyces cerevisiae* MTCC 181 and its protagonist In nanovesicle synthesis. **International Journal of Pharmaceutical Science Invention**. India, v.3, n.11, p.16–23, Nov.2014. ISSN: 2319-6718. Disponível em: [http://www.ijpsi.org/Papers/Vol3\(11\)/C0311016023.pdf](http://www.ijpsi.org/Papers/Vol3(11)/C0311016023.pdf).

EL-BATAL, A. I.; KHALAF, S. A. Xylitol production from corn cobs hemicellulosic hydrolysate by *Candida tropicalis* immobilized cells in hydrogel copolymer carrier. **International Journal of Agriculture and Biology**. Cairo, v.6, n.6, p.1066–1073, Jan.2004.

EL-SHESHTAWY, H. S.; AIAD, I.; OSMAN, M. E.; ABO-ELNASAR, A. A.; KOBISY, A. S. Production of biosurfactants by *Bacillus licheniformis* and *Candida albicans* for application in microbial enhanced oil recovery. **Egyptian Journal of Petroleum**. Cairo, v.25, n.3, p.293–298, Dec.2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejpe.2015.07.018>.

ELSHAFIE, A. E.; JOSHI, S.J.; AL-WAHAIBI, Y. M.; AL-BEMANI, A. S.; AL-BAHRY, S. N.; AL-MAQBALI, D.; BANAT, I. M. Sophorolipids production by *Candida bombicola* ATCC 22214 and its potential application in microbial enhanced oil recovery. **Frontiers in Microbiology**. Muscat,

v. 6, p. 1–11, Nov.2015. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01324>.

FAN, L.-L.; DONG, Y.-C.; FAN, Y.-F.; ZHANG, J.; CHEN, Q.-H. Production and identification of mannosylerythritol lipid-A homologs from the ustilaginomycetous yeast *Pseudozyma aphidis* ZJUDM34. **Carbohydrate Research**. Hangzhou, v.392, p.1–6, Jun.2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carres.2014.04.013>.

FARIQ, A.; YASMIN, A. Microbial cell factories. In: SHARMA, D.; SAHARAN, B. S. (Eds.). **Climate Change 2013 - The Physical Science Basis**. Boca Raton ed. London, New York: Cambridge University Press, 2018.

FERREIRA, I. N. S., RODRÍGUEZ, D. M., CAMPOS-TAKAKI, G. M., ANDRADE, R. F. S. Biosurfactant and bioemulsifier as promising molecules produced by *Mucor hiemalis* isolated from Caatinga soil. **Electronic Journal of Biotechnology**. Pernambuco, v.47, p.51–58, Sept.2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2020.06.006>.

FONTES, G. C.; RAMOS, N.M.; AMARAL, P. F. F.; NELE, M.; COELHO, M. A. Z. Renewable resources for biosurfactant production by *Yarrowia lipolytica*. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**. Rio de Janeiro, v.29, n.3, p.483–494, Sept.2012. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0104-66322012000300005>.

FORSSELL, P.; KONTKANEN, H.; SCHOLS, H. A.; HINZ, S.; EIJSINK, V. G. H.; TREIMO, J.; ROBERTSON, J. A.; WALDRON, K. W.; FAULDS, C. B.; BUCHERT, J. Hydrolysis of brewers' spent grain by carbohydrate degrading enzymes. **Journal of the Institute of Brewing**. Finlândia, v.114, n.4, p.306–314, Oct.2008. DOI: <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.2008.tb00774.x>.

FRANZETTI, A.; GANDOLFI, I.; BESTETTI, G.; SMYTH, T. J. P.; BANAT, I. M. Production and applications of trehalose lipid biosurfactants. **European Journal of Lipid Science and Technology**. Northern Ireland, v.112, n.6, p.617–627, June.2010. DOI: <https://doi.org/10.1002/ejlt.200900162>.

FUKUOKA, T.; MORITA, T.; KONISHI, M.; IMURA, T.; KITAMOTO, D. Characterization of new glycolipid biosurfactants, tri-acylated mannosylerythritol lipids, produced by *Pseudozyma* yeasts. **Biotechnology Letters**. Tsukuba, v.29, n.7, p.1111–1118, Jul.2007. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10529-007-9363-0>.

GAUR, V. K.; REGAR, R. K.; DHIMAN, N.; GAUTAM, K.; SRIVASTAVA, J. K.; PATNAIK, S.; KAMTHAN, M.; MANICKAM, N. Biosynthesis and characterization of sophorolipid biosurfactant by *Candida* spp.: Application as food emulsifier and antibacterial agent. **Bioresource Technology**. Uttar Pradesh, v.285, 121314, Aug.2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121314>.

GAUTIER, N.; MARÍAN, L. M. L.; LANÉELLE, M. A. Structure of mycoside F, a family of trehalose-containing glycolipids of *Mycobacterium fortuitum*. **FEMS Microbiology Letters**. Toulouse, v.77, n.1–3, p.81–87, Nov.1992. DOI: [https://doi.org/10.1016/0378-1097\(92\)90136-c](https://doi.org/10.1016/0378-1097(92)90136-c).

GEETHA, I.; PAILY, K. P.; MANONMANI, A. M. Mosquito adulticidal activity of a biosurfactant

produced by *Bacillus subtilis* subsp. *subtilis*. **Pest Management Science**. Puducherry, v.68, n.11, p.1447–1450, Nov.2012. DOI: <https://doi.org/10.1002/ps.3324>.

GEORGE, S.; JAYACHANDRAN, K. Analysis of rhamnolipid biosurfactants produced through submerged fermentation using orange fruit peelings as sole carbon source. **Applied Biochemistry and Biotechnology**. Athirampuzha, v.158, n.3, p.694–705, Sep.2009. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12010-008-8337-6>.

GONZALEZ PEREYR, M. L.; ROSA, C. A. R.; DALCERO, A. M.; CAVAGLIERI, L. R. Mycobiota and mycotoxins in malted barley and brewer's spent grain from Argentinean breweries. **Letters in Applied Microbiology**. Argentina, v.53, n.6, Dec.2011. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2011.03157.x>.

GOSWAMI, M.; DEKA, S. Biosurfactant production by a rhizosphere bacteria *Bacillus altitudinis* MS16 and its promising emulsification and antifungal activity. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. Guwahati, Assam, v.178, p.285–296, June.2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.03.003>.

GRIGOREVSKI-LIMA, A. L.; VINHA, F. N. M.; SOUZA, D. T.; BISPO, A. S. R.; BOM, E. P. S.; COELHO, R. R. R.; NASCIMENTO, R. P. *Aspergillus fumigatus* thermophilic and acidophilic endoglucanases. **Applied Biochemistry and Biotechnology**. Bahia, v.155, n.1–3, p.18–26, Jan.2009. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12010-008-8482-y>.

GUDIÑA, E.; RODRIGUES, A. I.; FREITAS, V.; AZEVEDO, Z.; TEIXEIRA, J. A.; RODRIGUES, L. R. Valorization of agro-industrial wastes towards the production of rhamnolipids. **Bioresource Technology**. Braga, v.212, p.144–150, Jul.2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.04.027>.

GUPTA, M.; ABU-GHANNAM, N.; GALLAGHAR, E. Barley for brewing: Characteristic changes during malting, brewing and applications of its by-products. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**. Dublin, v.9, n.3, p.318–328, Apr.2010. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2010.00112.x>.

GUZMÁN, A. A.; DELVASTO A. S.; SÁNCHEZ, E. V. Valorization of rice straw waste: an alternative ceramic raw material. **Cerâmica**. Colombia, v.61, p.126-136, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0366-69132015613571888>.

HASHEMI, M.; RAZAVI, S. H.; SHOJAOSADATI, S. A.; MOUSAVI, S. M. The potential of brewer's spent grain to improve the production of  $\alpha$ -amylase by *Bacillus* sp. KR-8104 in submerged fermentation system. **New Biotechnology**. Karaj, v.28, n.2, p.165–172, Feb.2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2010.10.009>.

HENTATI, D.; CHEBBIB, A.; HADRICH, F.; FRIKHA, I.; RABANAL, F.; SAYADI, S.; MANRESA, A.; CHAMKHA, M. Production, characterization and biotechnological potential of lipopeptide biosurfactants from a novel marine *Bacillus stratosphericus* strain FLU5. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. Sfax, v.167, p.441–449, Jan.2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.10.036>.

HISATSUKA, K.; NAKAHARA, T.; MINODA, Y.; YAMADA, K. Formation of protein-like activator

for n-alkane oxidation and its properties. **Agricultural and Biological Chemistry**. Tokyo, v.41, n.3, p.445–450, Jun.1977. DOI: <https://doi.org/10.1080/00021369.1977.10862518>.

HOMMEL, R.; STIIWER, O.; STUBER, W.; HAFERBURG, D.; KLEBER, H.-P. Production of water-soluble surface-active exolipids by *Torulopsis apicola*. **Applied Microbiology and Biotechnology**. Leipzig, v.26, n.3, p.199–205, June.1987. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00286308>.

HOMMEL, R. K.; WEBER, L.; WEISS, A.; HIMMELREICH, U.; RILKE, O.; KLEBER, H.-P. Production of sophorose lipid by *Candida (Torulopsis) apicola* grown on glucose. **Journal of Biotechnology**, Leipzig, v.33, n.2, p.147–155, Mar.1994. DOI: [https://doi.org/10.1016/0168-1656\(94\)90107-4](https://doi.org/10.1016/0168-1656(94)90107-4).

HOROWITZ, S.; GILBERT, J. N.; GRIFFIN, W. M. Isolation and characterization of a surfactant produced by *Bacillus licheniformis* 86. **Journal of Industrial Microbiology**. Cleveland, v.6, n.4, p.243–248, Dec.1990. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF01575868>.

ITO, S.; INOUE, S. Sophorolipids from *Torulopsis bombicola*: Possible relation to alkane uptake. **Applied and Environmental Microbiology**. Ichikaimachi, v.43, n.6, p.1278–1283, Jun.1982. DOI: <https://doi.org/10.1128/aem.43.6.1278-1283.1982>.

JARROS, I. C.; VEIGA, F. F.; CORRÊA, J. L.; BARROS, I. L. E.; GADELHA, M. C.; VOIDALESKI, M. F.; PIERALISI, N.; PEDROSO, R. B.; VICENTE, V. A.; NEGRI, M.; SVIDZINSKI, T. I. E. Microbiological and virulence aspects of *Rhodotorula mucilaginosa*. **EXCLI Journal**. Paraná, v.19, p.687-704, May.2020. PMID: 32536838. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7290102/>. Acesso em 20 de agosto de 2020.

JEZIERSKA, S.; CLAUS, S.; VAN BOGAERT, I. Yeast glycolipid biosurfactants. **FEBS Letters**. Gent, v.592, n.8, p.1312–1329, Apr.2018. DOI: <https://doi.org/10.1002/1873-3468.12888>.

JOSHI, S. J.; DESAI, A. J. Biosurfactant's role in bioremediation of NAPL and fermentative production. In: Sen R. **Biosurfactants. Advances in Experimental Medicine and Biology**. Springer, New York, 2010, v.672, p.222–235. DOI: [https://doi.org/10.1007/978-1-4419-5979-9\\_17](https://doi.org/10.1007/978-1-4419-5979-9_17).

KAKUGAWA, K.; TAMAI, M.; IMAMURA, K.; MIYAMOTO, K.; MIYOSHI, S.; MORINAGA, Y.; SUZULI, O.; MIYAKAWA, T. Isolation of yeast *Kurtzmanomyces* sp. I-11, novel producer of mannosylerythritol lipid. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**. Higashi-Hiroshima, v.66, n.1, p.188–191, Jan.2002. DOI: <https://doi.org/10.1271/bbb.66.188>.

KÄPPELI, O.; WALTHER, P.; MUELLER, M.; FIECHTER, A. Structure of the cell surface of the yeast *Candida tropicalis* and its relation to hydrocarbon transport. **Archives of Microbiology**. Zürich, v.138, n.4, p.279–282, Aug.1984. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00410890>.

KASKATEPE, B.; YILDIZ, S.; GUMUSTAS, M.; OZKAN, S.A. Rhamnolipid production by *Pseudomonas putida* IBS036 and *Pseudomonas pachastrellae* LOS20 with using pulps. **Current Pharmaceutical Analysis**. Ankara, v.13, n.2, p.138–144, July.2017. DOI: <https://doi.org/10.2174/1573412912666161018144635>.

KASKATEPE, B.; YILDIZ, S. Rhamnolipid biosurfactants produced by *Pseudomonas* species. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. Ankara, v.59, p.1–16, Jan-Dec.2016. DOI: <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2016160786>.

KAUR, G.; WANG, H.; TO, M. H.; ROELANTS, S. L. K. W.; SOETAERT, W.; LIN, C. S. K. Efficient sophorolipids production using food waste. **Journal of Cleaner Production**. Hong Kong, v.232, p.1-11, May.2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.05.326>.

KAWAHARA, H.; HIRAI, A.; MINABE, T.; OBATA, H. Stabilization of astaxanthin by a novel biosurfactant produced by *Rhodotorula mucilaginosa* KUGPP-1. **Biocontrol Science**. Kansai, v.18, n.1, p.21-28, 2013. DOI: <https://doi.org/10.4265/bio.18.21>.

KHADEMOLHOSSEINI, R.; JAFARI, A.; MOUSAVI, S. M.; HAJFARAJOLLAH, H.; NOGHABI, K. A.; MANTEIGHIAN, M. Physicochemical characterization and optimization of glycolipid biosurfactant production by a native strain of *Pseudomonas aeruginosa* HAK01 and its performance evaluation for the MEOR process. **RSC Advances**. Tehran, v.9, n.14, p.7932–7947, Feb.2019. DOI: <https://doi.org/10.1039/C8RA10087J>.

KIM, H.-S.; JEON, J.-W.; KIM, B.-H.; AHN, C.-Y.; OH, H.-M.; YOON, B.-D. Extracellular production of a glycolipid biosurfactant, mannosylerythritol lipid, by *Candida* sp. SY16 using fed-batch fermentation. **Applied Microbiology and Biotechnology**. Yusong, v.70, n.4, p.391–396, Apr.2006. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00253-005-0092-9>.

KITAMOTO, D.; IKEGAMI, T.; SUZUKI, G. T.; SASAKI, A.; TAKEYAMA, Y.-I.; IDEMOTO, Y.; KOURA, N.; YAMAGISHITA, H. Microbial conversion of n-alkanes into glycolipid biosurfactants, mannosylerythritol lipids, by *Pseudozyma (Candida antarctica)*. **Biotechnology Letters**. Tsukuba, v.23, n.20, p.1709–1714, Oct.2001. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1012464717259>.

KÜGLER, J. H.; MUHLE-GOLL, C.; KÜHL, B. KRAFT, A.; HEINZLER, R.; KIRSCHHÖFER, F.; HENKEL, M.; WRAY, V.; LUY, B.; BRENNER-WEISS, G.; LANG, S.; SYLDATK, C.; HAUSMANN, R. Trehalose lipid biosurfactants produced by the actinomycetes *Tsukamurella spumae* and *T. pseudospumae*. **Applied Microbiology and Biotechnology**. Karlsruhe, v.98, n.21, p.8905–8915, Nov.2014. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00253-014-5972-4>.

KUMAR, A. K.; SHARMA, S. Recent updates on different methods of pretreatment of lignocellulosic feedstocks: a review. **Bioresources and Bioprocessing**. v.4, n.1, Jan.2017. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40643-017-0137-9>.

KUNZE, W. **Technology Brewing and Malting**. 3 ed. VLB Berlin: Germany, 2004.

LACA, A.; LACA, A.; DÍAZ, M. Hydrolysis: From cellulose and hemicellulose to simple sugars. In: Basile, A.; Dalena, F. **Second and Third Generation of Feedstocks. The Evolution of Biofuels**. Elsevier, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815162-4.00008-2>.

LANG, S. Biological amphiphiles (Microbial biosurfactants). **Current Opinion in Colloid and Interface Science**. Braunschwei, v.7, n.1–2, p.12–20, Mar.2002. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1359-0294\(02\)00007-9](https://doi.org/10.1016/S1359-0294(02)00007-9).

LI, M.; MENG, X.; DIAO, E.; DU, F. Xylitol production by *Candida tropicalis* from corn cob

hemicellulose hydrolysate in a two-stage fed-batch fermentation process. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**. Jinan, v.87, n.3, p.387–392, Mar.2012. DOI: <https://doi.org/10.1002/jctb.2732>.

LIMA, R. A.; ANDRADE, R.F.S.; RODRÍGUEZ, D.M.; ARAUJO, H.W.C.; SANTOS, V.P.; CAMPOS-TAKAKI, G.M. Production and characterization of biosurfactant isolated from *Candida glabrata* using renewable substrates. **African Journal of Microbiology Research**. Pernambuco, v.11, n.6, p.237–244, Feb.2017. DOI: <https://doi.org/10.5897/AJMR2016.8341>.

LIN, T.H.; HUANG, C.F.; GUO, G.L.; HWANG, W.S.; HUANG, S.L. Pilot-scale ethanol production from rice straw hydrolysates using xylose-fermenting *Pichia stipitis*. **Bioresource Technology**. Taoyuan, v.116, p.314–319, July.2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.03.089>.

LOVAGLIO, R. B.; SILVA, V. L.; FERREIRA, H. ; HAUSMANN, R.; CONTIERO, J. Rhamnolipids know-how: Looking for strategies for its industrial dissemination. **Biotechnology Advances**. São Paulo, v.33, n.8, p.1715-1726, Dec.2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.09.002>.

LUKONDEH, T.; ASHBOLT, N. J.; ROGERS, P. L. Evaluation of *Kluyveromyces marxianus* FII 510700 grown on a lactose-based medium as a source of a natural bioemulsifier. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**. Sydney, v.30, n.12, p.715–720, Dec.2003. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10295-003-0105-6>.

LYNCH, K. M.; STEFFEN, E. J.; ARENDT, E. K. Brewers' spent grain: a review with an emphasis on food and health. **Journal of the Institute of Brewing**. Cork, v.122, n.4, p.553–568, Oct.2016. DOI: <https://doi.org/10.1002/jib.363>.

MA, X.; MENG, L.; ZHANG, H.; ZHOU, L.; YUE, J.; ZHU, H.; YAO, R. Sophorolipid biosynthesis and production from diverse hydrophilic and hydrophobic carbon substrates. **Applied Microbiology and Biotechnology**. Hefei, v.104, n.1, p.77–100, Nov.2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00253-019-10247-w>.

MACDONALD, C. R.; COOPER, D. G.; ZAJIC, J. E. Surface-active lipids from *Nocardia erythropolis* grown on hydrocarbons. **Applied and Environmental Microbiology**. El Paso, v.41, n.1, p.117–123, Jan.1981. DOI: <https://doi.org/10.1128/aem.41.1.117-123.1981>.

MAGALHÃES, E. R. B.; SILVA, F.L.; SOUSA, M. A. S. B.; SANTOS, E. S. Use of different agroindustrial waste and produced water for biosurfactant production. **Biosciences Biotechnology Research Asia**. Paraíba, v.15, n.1, p.17–25, Mar.2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.13005/bbra/2604>.

MAIER, R. M. Biosurfactants: Evolution and diversity in bacteria. **Advances in Applied Microbiology**. Arizona, v.52. p.101–121. Jan.2003, DOI: [https://doi.org/10.1016/S0065-2164\(03\)01004-9](https://doi.org/10.1016/S0065-2164(03)01004-9).

MAKKAR, R.S., ROCKNE, K. J. Comparison of synthetic surfactants and biosurfactants in enhancing biodegradation of PAH. **Environmental Toxicology and Chemistry**. Chicago,

v.22, n.10, p.2280–2292, Oct.2003. DOI: <https://doi.org/10.1897/02-472>.

MAKKAR, R. S.; CAMEOTRA, S. S.; BANAT, I. M. Advances in utilization of renewable substrates for biosurfactant production. **AMB Express**. Chandigarh, v.1, n.1, p.1–19, Mar.2011. DOI: <https://doi.org/10.1186/2191-0855-1-5>.

MANDALARI, G.; BISIGNANO, G.; LO CURTO, R.B.; WALDRON, K.W.; FAULDS, C.B. Production of feruloyl esterases and xylanases by *Talaromyces stipitatus* and *Humicola grisea* var. *thermoidea* on industrial food processing by-products. **Bioresource Technology**. Norwich, v.99, n.11, p.5130–5133, Jul.2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.09.022>.

MARAHIEL, M. A. DANDERS, W.; KRAUSE, M.; KLEINKAUF, H. Biological role of gramicidin S in spore functions. Studies on gramicidin-S-negative mutants of *Bacillus brevis* ATCC9999. **European Journal of Biochemistry**. v.99, n.1, p.49–55, Aug.1979. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1979.tb13229.x>.

MARCELINO, P. R. F.; SILVA, V. L.; PHILIPPINI, R. R.; ZUBEN, C. J. V.; CONTIERO, J.; SANTOS, J. C.; SILVA, S. S. Biosurfactants produced by *Scheffersomyces stipitis* cultured in sugarcane bagasse hydrolysate as new green larvicides for the control of *Aedes aegypti*, a vector of neglected tropical diseases. **PLOS ONE**. São Paulo, v.12, n.11, e0187125, Nov.2017. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0187125>.

MARCELINO, P. R. F.; PERES, G.F.D.; TERÁN-HILARES, R.; PAGNOCCA, F.C.; ROSA, C.A.; LACERDA, T.M.; SANTOS, J.C.; SILVA, S.S. Biosurfactants production by yeasts using sugarcane bagasse hemicellulosic hydrolysate as new sustainable alternative for lignocellulosic biorefineries. **Industrial Crops and Products**. São Paulo, v.129, p.212–223, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.12.001>.

MASTANJEVIĆ, K.; LUKINAC, J.; JUKIĆ, M.; ŠARKANJ, B.; KRSTANOVIĆ, V.; MASTANJEVIĆ, K. Multi-(myco)toxins in Malting and Brewing By-Products. **Toxins**. Croatia, v.11, n.1, p.1-15, Jan.2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins11010030>.

MAX, F. S. Y.; ANDRADE, R.F.S.; SILVA, A.M.; RIBEIRO, D.L.R.; JARA, A.M.A.T.; ALENCAR, A.A.; CAMPOS-TAKAKI, G.M.; GUSMÃO, N.B. Biosurfactant production by *Rhodotorula glutinis*: Emulsifying property and stability. In: Mendez-Vilas, A. **Microbes in Applied Research - Current Advances and Challenges**. Malaga, Spain: World Scientific, 2012. DOI: [https://doi.org/10.1142/9789814405041\\_0072](https://doi.org/10.1142/9789814405041_0072).

MEENA, K. R.; SHARMA, A.; KANWAR, S. S. Antitumoral and antimicrobial activity of surfactin extraído de *Bacillus subtilis* KLP2015. **International Journal of Peptide Research and Therapeutics**. India, v.26, p.423-433, Apr.2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10989-019-09848-w>.

MIRELES, J. R.; TOGUCHI, A.; HARSHEY, R. M. *Salmonella enterica* serovar typhimurium swarming mutants with altered biofilm-forming abilities: surfactin inhibits biofilm formation. **Journal of Bacteriology**. Texas, v.183, n.20, p.5848–5854, Oct.2001. DOI: <https://doi.org/10.1128/JB.183.20.5848-5854.2001>.

MISRA, S.; RAGHUWANSHI, S.; SAXENA, R. K. Evaluation of corncob hemicellulosic hydrolysate for xylitol production by adapted strain of *Candida tropicalis*. **Carbohydrate Polymers**. New Delhi, v.92, n.2, p.1596–1601, Feb.2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.11.033>.

MNIF, I.; GHRIBI, D. Review lipopeptides biosurfactants: Mean classes and new insights for industrial, biomedical, and environmental applications. **Biopolymers**. Sfax, v.104, n.3, p.129–147, May.2015. DOI: <https://doi.org/10.1002/bip.22630>.

MOHANTY, S. S.; KOUL, Y.; VARJANI, S.; PANDEY, A.; NGO, H. H.; CHANG, J.-S.; WONG, J. W. C.; BUI, X.-T. A critical review on various feedstocks as sustainable substrates for biosurfactants production: a way towards cleaner production. **Microbial Cell Factories**. v.20, n. 120, June.2021. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12934-021-01613-3>.

MOLDES, A. B.; TORRADO, A.M.; BARRAL, M.T.; DOMÍNGUEZ, J.M. Evaluation of biosurfactant production from various agricultural residues by *Lactobacillus pentosus*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Ourense, v. 55, n.11, p.4481–4486, May.2007. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf063075g>.

MOLDES, A.; VECINO, X.; RODRÍGUEZ-LÓPEZ, L.; RINCÓN-FONTÁN, M.; Cruz, J.M. Biosurfactants: the use of biomolecules in cosmetics and detergents. In.: **New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering: Microbial Biomolecules: Properties, Relevance, and their Translational Applications**. p.163-185, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64301-8.00008-1>.

MORIKAWA, M.; DAIDO, H.; TAKAO, T.; MURATA, S.; SHIMONISHI, Y.; IMANAKA, T. A new lipopeptide biosurfactant produced by *Arthrobacter* sp. strain MIS38. **Journal of Bacteriology**. Osaka, v.175, n.20, p.6459–6466, Oct.1993. DOI: <https://doi.org/10.1128/jb.175.20.6459-6466.1993>.

MORITA, T.; KONISHI, M.; FUKUOKA, T.; IMURA, T.; KITAMOTO, H. K.; KITAMOTO, D. Characterization of the genus *Pseudozyma* by the formation of glycolipid biosurfactants, mannosylerythritol lipids. **FEMS Yeast Research**. Ibaraki, v.7, n.2, p.286–292, Mar.2007. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1567-1364.2006.00154.x>.

MORITA, T.; KONISHI, M.; FUKUOKA, T.; IMURA, T.; KITAMOTO, D. Discovery of *Pseudozyma rugulosa* NBRC 10877 as a novel producer of the glycolipid biosurfactants, mannosylerythritol lipids, based on rDNA sequence. **Applied Microbiology and Biotechnology**. Ibaraki, v.73, n.2, p.305–313, Nov.2006. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00253-006-0466-7>.

MOUSSA, T. A. A.; MOHAMED, M. S.; SAMAK, N. Production and characterization of di-rhamnolipid produced by *Pseudomonas aeruginosa* TMN. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**. Cairo, v.31, n.4, p.867–880, Oct.-Dec.2014. DOI: <https://doi.org/10.1590/0104-6632.20140314s00002473>.

MUSSATTO, S. I.; ROBERTO, I. C. Acid hydrolysis and fermentation of brewer's spent grain to produce xylitol. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. São Paulo, v.85, n.14, p.2453–2460, Nov.2005. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.2276>.

- MUSSATTO, S. I.; DRAGONE, G.; ROBERTO, I. C. Brewers' spent grain: generation, characteristics and potential applications. **Journal of Cereal Science**. São Paulo, v.43, n.1, p.1–14, Jan.2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2005.06.001>.
- MUSSATTO, S. I.; ROBERTO, I. C. Chemical characterization and liberation of pentose sugars from brewer's spent grain. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**. São Paulo, v.81, n.3, p.268–274, Oct.2006. DOI: <https://doi.org/10.1002/jctb.1374>.
- MUSSATTO, S. I.; FERNANDES, M.; MILAGRES, A.M.F.; ROBERTO, I.C. Effect of hemicellulose and lignin on enzymatic hydrolysis of cellulose from brewer's spent grain. **Enzyme and Microbial Technology**. São Paulo, v.43, n.2, p.124–129, Aug.2008a. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2007.11.006>.
- MUSSATTO, S. I. Brewer's spent grain: a valuable feedstock for industrial applications. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. Braga, v.94, n.7, p.1264–1275, Jan.2014. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.6486>.
- NESMĚRÁK, K.; NĚMCOVÁ, I. Determination of critical micelle concentration by electrochemical means. **Analytical Letters**. Prague, v.39, n.6, p.1023–1040, Oct.2006. DOI: <https://doi.org/10.1080/00032710600620302>.
- NGUYEN, T. T.; YOUSSEF, N.H.; MCLNERNEY, M.J.; SABATINE, D.A. Rhamnolipid biosurfactant mixtures for environmental remediation. **Water Research**. Norman, v.42, n.6–7, p.1735–1743, Mar.2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.10.038>.
- NIKOLOVA, C.; GUTIERREZ, T. Biosurfactants and their applications in the oil and gas industry: current State of Knowledge and future perspectives. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**. v.9, 626639, Feb.2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.626639>.
- NIGAM, J. Ethanol production from wheat straw hemicellulose hydrolysate by *Pichia stipitis*. **Journal of Biotechnology**. Jorhat, v.87, n.1, p.17–27, Apr.2001. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0168-1656\(00\)00385-0](https://doi.org/10.1016/s0168-1656(00)00385-0).
- NI'MATUZAHROH.; SARI, S.K.; TRIKURNIADEWI, N.; PUSFITA, A.D.; NINGRUM, I.P.; IBRAHIM, S.N.M.M.; NURHARIYATI, T.; FATIMAH.; SURTININGSIH, T. Utilization of rice straw hydrolysis product of *Penicillium* sp. H9 as a substrate of biosurfactant production by LII61 hydrocarbonoclastic bacteria. **IOP Conference Series. Earth and Environmental Science**. Airlangga, v.217, n.1, p.012028, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1088/1755-1315/217/1/012028>.
- NITSCHKE, M.; PASTORE, G. M. Production and properties of a surfactant obtained from *Bacillus subtilis* grown on cassava wastewater. **Bioresource Technology**. São Paulo, v.97, n.2, p.336–341, Jan.2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.02.044>.
- NOGUEIRA FELIX, A. K.; MARTINS, J.J.L.; ALMEIDA, J.G.L.; GIRO, M.E.A.; CAVALCANTE, K.F.; MELO, V.M.M.; PESSOA, O.D.L.; ROCHA, V.P.; GONÇALVES, L.R.B.; AGUIAR., R.S.S. Purification and characterization of a biosurfactant produced by *Bacillus subtilis* in cashew apple juice and its application in the remediation of oil-contaminated soil. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. Ceará, v.175, p.256–263, Mar.2019. DOI:

<https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.11.062>.

OJE, O. A.; OKPASHI, V.E.; UZOR, J.C.; UMA, U.O.; IROGBOLU, A.O.; ONWURAH, I.N.E. Effect of acid and alkaline pretreatment on the production of biosurfactant from rice usk using *Mucor indicus*. **Research Journal of Environmental Toxicology**. Ebonyi State, v.10, n.1, p.60–67, 2016. DOI: <https://doi.org/10.3923/rjet.2016.60.67>.

OLIVEIRA, J. G.; GARCIA-CRUZ, C. H. Properties of a biosurfactant produced by *Bacillus pumilus* using vinasse and waste frying oil as alternative carbon sources. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. São Paulo, v.56, n.1, p.155–160, Jan.-Fev.2013. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-89132013000100020>.

PALMQVIST, E.; HAHN-HÄGERDAL, B. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. II: Inhibitors and mechanisms of inhibition. **Bioresource Technology**. Lund, v.74, n.1, p. 25–33, Aug.2000. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(99\)00161-3](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(99)00161-3).

PANILAITIS, B.; CASTRO, G.R.; SOLAIMAN, D.; KAPLAN, D.L. Biosynthesis of emulsan biopolymers from agro-based feedstocks. **Journal of Applied Microbiology**. Medford, v.102, n.2, p.531–537, Fev.2007. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2006.03078.x>.

PAZ, A.; OUTEIRIÑO, D.; GUERRA, N.P.; DOMÍNGUEZ, J.M. Enzymatic hydrolysis of brewer's spent grain to obtain fermentable sugars. **Bioresource Technology**. Ourense, v.275, p.402–409, Mar.2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.12.082>.

PELE, M.A.; RIBEAUX, D.B.; VIEIRA, E.R.; SOUZA, A.F.; LUNA, M.A.C.; RODRÍGUEZ, D.M.; ANDRADE, R.F.S.; ALVIANO, D.S.; ALIVIANO, C.S.; Barreto-Bergte, E.; Santiago, A. L. C. M. A.; Campos-Takaki, G. M. Conversion of renewable substrates for biosurfactant production by *Rhizopus arrhizus* UCP 1607 and enhancing the removal of diesel oil from marine soil. **Electronic Journal of Biotechnology**. Pernambuco, v.38, p.40–48, Mar.2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2018.12.003>.

PEREZ, K. J.; VIANA, J. S.; LOPES, F. C.; PEREIRA, J. Q.; SANTOS, D. M., OLIVEIRA, J. S.; VELHO, R. V.; CRISPIM, S. M., NICOLI, J. N. *Bacillus* spp. isolated from puba as a source of biosurfactants and antimicrobial lipopeptides. **Frontiers in Microbiology**. Minas Gerais, v.8, n.61, p.1–14, Jan.2017. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00061>.

PERSSON, A.; ÖSTERBERG, E.; DOSTALEK, M. Biosurfactant production by *Pseudomonas fluorescens* 378: growth and product characteristics. **Applied Microbiology and Biotechnology**. Lund, v.29, n.1, p.1–4, Aug.1988. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00258342>.

PLAZA, P. E.; GALLEGU-MORALES, L.J.; PEÑUELA-VÁSQUEZ, M.; LUCAS, S.; GARCÍA-CUBERO, M.T.; COCA, M. Biobutanol production from brewer's spent grain hydrolysates by *Clostridium beijerinckii*. **Bioresource Technology**. Valladolid, v.244, p.166–174, Nov.2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.07.139>.

PORTILLA-RIVERA, O.; TORRADO, A.; DOMÍNGUEZ, J.M.; MOLDES, A.B. Stability and emulsifying capacity of biosurfactants obtained from lignocellulosic sources using *Lactobacillus pentosus*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.56, n.17, p.8074–8080, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf801428x>.

PRABU, R.; KUILA, A.; RAVISHANKAR, R.; RAO, P. V. C.; CHOUDARY, N. V.; VELANKAR, H.R. Microbial rhamnolipid production in wheat straw hydrolysate supplemented with basic salts. **RSC Advances**. Bengaluru, v.5, n.64, p.51642–51649, Jun.2015. DOI: <https://doi.org/10.1039/C5RA05800G>.

RAAIJMAKERS, J. M.; BRUIJIN, I.; NYBROE, O.; ONGENA, M. Natural functions of lipopeptides from *Bacillus* and *Pseudomonas*: more than surfactants and antibiotics. **FEMS Microbiology Reviews**. Wageningen, v.34, n.6, p.1037–1062, Nov.2010. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2010.00221.x>.

RANASALVA, N.; SUNIL, R.; POOVARASAN, G. Importance of biosurfactant in food industry. **IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science**. Manakadavu, v. 7, n. 5, p. 06–09, May.2014. ISSN: 2319-2372. Disponível em: <http://www.iosrjournals.org/iosr-javs/papers/vol7-issue5/Version-4/B07540609.pdf>.

RAPP, P.; BOCK, H.; WRAY, V.; WAGNER, F. Formation, isolation and characterization of trehalose dimycolates from *Rhodococcus erythropolis* grown on n-alkanes. **Journal of General Microbiology**. Braunschweig, v.115, n.2, p.491–503, Dec.1979. DOI: <https://doi.org/10.1099/00221287-115-2-491>.

RAU, U.; NGUYEN, L.A.; ROEPER, H.; KOCH, H.; GÍRIA. Fed-batch bioreactor production of mannosylerythritol lipids secreted by *Pseudozyma aphidis*. **Applied Microbiology and Biotechnology**. Brunswick, v.68, n.5, p.607–613, Feb.2005. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00253-005-1906-5>.

RIBEIRO, D. L. R.; ANDRADE, R.F.S.; ANTUNES, A.A.; MARQUES SILVA, A.; YURI MAX, F.S.; CAMPOS-TAKAKI, G.M. Biosurfactant production by *Rhodotorula glutinis* UCP 1555 using industrial wastes. In: MENDEZ-VILAS, A. **Microbes in Applied Research - Current Advances and Challenges**. Malaga, Spain: World Scientific, 2012. DOI: [https://doi.org/10.1142/9789814405041\\_0011](https://doi.org/10.1142/9789814405041_0011).

RIKALOVIC, M.; VRVIC, M.; KARADZIC, I. Rhamnolipid biosurfactant from *Pseudomonas aeruginosa*: From discovery to application in contemporary technology. **Journal of the Serbian Chemical Society**. Belgrade, v.80, n.3, p.279–304, 2015. DOI: <https://doi.org/10.2298/JSC140627096R>.

RIOS-GONZÁLEZ, L. J.; MORALES-MARTÍNEZ, T. K.; RODRÍGUEZ-FLORES, M. F.; RODRÍGUEZ-DE LA GARZA, J. A.; CASTILLO-QUIROZ, D.; CASTRO-MONTOYA, A. J.; MARTINEZ, A. Autohydrolysis pretreatment assessment in ethanol production from agave bagasse. **Bioresource Technology**. Mexico, v.242, p.184-190, Oct.2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.03.039>.

ROBERTO, I. C.; MUSSATTO, S. I.; RODRIGUES, R. C. L. B. Dilute-acid hydrolysis for optimization of xylose recovery from rice straw in a semi-pilot reactor. **Industrial Crops and Products**. São Paulo, v.17, n.3, p.171–176, May.2003. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0926-6690\(02\)00095-X](https://doi.org/10.1016/S0926-6690(02)00095-X).

RODRIGUES, L.; BANAT, I.M.; TEIXEIRA, J.; OLIVEIRA, R. Biosurfactants: Potential applications in medicine. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**. Braga, v.57, n.4, p.609–

618, Fev.2006. DOI: <https://doi.org/10.1093/jac/dkl024>.

ROJAS-CHAMORRO, J. A.; CARA, C.; ROMERO, I.; RUIZ, E.; ROMERO-GARCÍA, J.M.; MUSSATTO, S.L.; CASTRO, E. Ethanol production from brewers' spent grain pretreated by dilute phosphoric acid. **Energy and Fuels**. Jaén, v. 32, n. 4, p. 5226–5233, Mar.2018. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.8b00343>.

ROSENBERG, E.; RUBINOVITZ, C.; GOTTLIEB, A.; ROSENHAK, S.; RON, E. Z. Production of biosurfactant by *Acinetobacter calcoaceticus* A2. **Applied and Environmental Microbiology**. Ramat Aviv, v.54, n.2, p.317–322, Feb.1988. DOI: <https://doi.org/10.1128/aem.54.2.317-322.1988>.

ROSENBERG, E.; RON, E. Z. High- and low-molecular-mass microbial surfactants. **Applied and Environmental Microbiology**. Ramat Aviv, v.52, n.2, p.154–162, Aug.1999. DOI: <https://doi.org/10.1007/s002530051502>.

RUBINOVITZ, C.; GUTNICK, D. L.; ROSENBERG, E. Emulsan production by *Acinetobacter calcoaceticus* in the presence of chloramphenicol. **Journal of Bacteriology**. v.152, n.1, p.126–132, 1982. DOI: <https://doi.org/10.1128/jb.152.1.126-132.1982>.

SACHDEV, D. P.; CAMEOTRA, S. S. Biosurfactants in agriculture. **Applied Microbiology and Biotechnology**. Pune, v.97, n.3, p.1005–1016, Jan.2013. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00253-012-4641-8>.

SAHARAN, B. S.; SAHU, R. K.; SHARMA, D. A review on biosurfactants: fermentation, current developments and perspectives. **Genetic Engineering and Biotechnology Journal**. v.2011, p.1–14, Nov.2011. Disponível em: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download;jsessionid=89712C5248589F666563EB5CED4EA176?doi=10.1.1.465.259&rep=rep1&type=pdf>.

SAJNA, K. V.; SUKUMARAN, R. K.; JAYAMURTHY, H.; REDDY, K. K.; KANJILAL, S.; PRASAD, R.B.N.; PANDEY, A. Studies on biosurfactants from *Pseudozyma* sp. NII 08165 and their potential application as laundry detergent additives. **Biochemical Engineering Journal**. Trivandrum, v.78, p.85–92, Sept.2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bej.2012.12.014>.

SANTOS, D. K. F.; BRANDÃO, Y. B.; RUFINO, R. D.; LUNA, J. M.; SALGUEIRO, A. A.; SANTOS, V. A.; SARUBBO, L. A. Optimization of cultural conditions for biosurfactant production from *Candida lipolytica*. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**. Pernambuco, v.3, n.3, p.48–57, July.2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2014.02.004>.

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 Sciences**. Pernambuco, v.17, n.3, p.1–31, Mar.2016. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms17030401>.

SANTOS, A. P. P.; SILVA, M. D. S.; COSTA, E. V. L.; RUFINO, R. D.; SANTOS, V. A.; RAMOS, C. S.; SARUBBO, L. A.; PORTO, A. L. F. Production and characterization of a biosurfactant produced by *Streptomyces* sp. DPUA 1559 isolated from lichens of the Amazon region. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. Pernambuco, v.51, n.2, p.1–10,

2018. DOI: <https://doi.org/10.1590/1414-431X20176657>.

SANTOS, V. S. V.; SILVEIRA, E.; PEREIRA, B. B. Toxicity and applications of surfactin for health and environmental biotechnology. **Journal of Toxicology and Environmental Health. Part B, Critical Reviews**. Uberlândia, v.21, n.6–8, p.382–399, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1080/10937404.2018.1564712>.

SANTOS, E. C. L.; MIRANDA, D. A. R.; SILVA, A. L. S.; LÓPEZ, A. M. Q. Biosurfactant Production by *Bacillus* strains isolated from sugar cane mill wastewaters. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. Alagoas, v.62, p.1–12, 2019a. DOI: <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2019170630>.

SANTOS, E. F.; TEIXEIRA, M. F. S.; CONVERTI, A.; PORTO, A. L. F.; SARUBBO, L.A. Production of a new lipoprotein biosurfactant by *Streptomyces* sp. DPUA1566 isolated from lichens collected in the Brazilian Amazon using agroindustry wastes. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**. Pernambuco, v.17, p.142–150, Jan.2019b. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.10.014>.

SARI, M.; KUSHARYOTO, W.; ARTIKA, I. M. Screening for biosurfactant-producing yeast: confirmation of biosurfactant production. **Biotechnology**. Bogor, v.13, n.3, p.106–111, 2014. DOI: <https://doi.org/10.3923/biotech.2014.106.111>.

SARUBBO, L. A.; MARÇAL, M.C.; NEVES, M. L. C.; SILVA, M. P. C.; PORTO, L. F.; CAMPOSTAKAKI, G. M. Bioemulsifier production in batch culture using glucose as carbon source by *Candida lipolytica*. **Applied Biochemistry and Biotechnology**. Pernambuco, v.95, n.1, p.59–68, Sept.2001. DOI: <https://doi.org/10.1385/ABAB:95:1:59>.

SEN, S.; BORAH, S. N.; BORA, A.; DEKA, S. Production, characterization, and antifungal activity of a biosurfactant produced by *Rhodotorula babjevae* YS3. **Microbial Cell Factories**. Assam, v.16, n.95, p.1-14, May.2017. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12934-017-0711-z>.

SHALIGRAM, N. S.; SINGHAL, R. S. Surfactin -a review on biosynthesis, fermentation, purification and applications. **Food Technology and Biotechnology**. Mumbai, v.48, n.2, p.119–134, Jan.2010. ISSN 1330-9862, Disponível em: <https://www.ftb.com.hr/images/pdfarticles/2010/April-June/48-119.pdf>.

SHARMA, D. **Biosurfactants in Food**. Cham: Springer International Publishing, 2016.

SILVA, J. P. A.; MUSSATTO, S. I.; ROBERTO, I. C. The influence of initial xylose concentration, agitation, and aeration on ethanol production by *Pichia stipitis* from rice straw hemicellulosic hydrolysate. **Applied Biochemistry and Biotechnology**. São Paulo, v.162, n.5, p.1306–1315, Nov.2010. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12010-009-8867-6>.

SINGH, P.; TIWARY, B. N. Isolation and characterization of glycolipid biosurfactant produced by a *Pseudomonas otitidis* strain isolated from Chirimiri coal mines, India. **Bioresources and Bioprocessing**. India, v.3, n.42, Sept.2016. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40643-016-0119-3>.

SINGH, P.; PATIL, Y.; RALE, V. Biosurfactant production: emerging trends and promising strategies. **Journal of Applied Microbiology**. Pune, v.126, n.1, p.2–13, Jan.2019. DOI:

<https://doi.org/10.1111/jam.14057>.

SOARES DA SILVA, R. C. F.; ALMEIDA, D. G.; MEIRA, H. M.; SILVA, E. J.; FARIAS, C. B. B.; RUFINO, R. D.; LUNA, J. M.; SARUBBO, L. A. Production and characterization of a new biosurfactant from *Pseudomonas cepacia* grown in low-cost fermentative medium and its application in the oil industry. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**. Pernambuco, v.12, p.206–215, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2017.09.004>.

SOBERÓN-CHÁVEZ, G.; GONZÁLEZ-VALDEZ, A.; SOTO-ACEVES, M. P.; COCOTL-YAÑEZ, P. Rhamnolipids produced by *Pseudomonas*: from molecular genetics to the market. **Microbial Biotechnology**. Mexico, v.14, n.1, p.136-146, Jan.2021. DOI: <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13700>.

SOBRINHO, H. B. S.; RUFINO, R. D.; LUNA, J. M.; SALQUEIRO, A. A.; CAMPOS-TAKAKI, G. M.; LEITE, L. F. C.; SARUBBO, L. A. Utilization of two agroindustrial by-products for the production of a surfactant by *Candida sphaerica* UCP0995. **Process Biochemistry**. Pernambuco, v.43, n.9, p.912–917, Sept.2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2008.04.013>.

SOLAIMAN, D. K. Y.; ASHBY, R. D.; NUÑEZ, A.; FOGLIA, T. A. Production of sophorolipids by *Candida bombicola* grown on soy molasses as substrate. **Biotechnology Letters**. Wyndmoor, v.26, n.15, p.1241–1245, Aug.2004. DOI: <https://doi.org/10.1023/B:BILE.0000036605.80577.30>.

SOUZA, K. S. T. T.; GUDIÑA, E. J.; AZEVEDO, Z.; FREITAS, V.; SCHWAM, R. F.; RODRIGUES, L.R.; DIAS, D.R.; TEIXEIRA, J.A. New glycolipid biosurfactants produced by the yeast strain *Wickerhamomyces anomalus* CCMA 0358. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. Minas Gerais, v.154, p.373–382, June.2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2017.03.041>.

SUN, J. X.; SUN, X. F.; ZHAO, H.; SUN, R. C. Isolation and characterization of cellulose from sugarcane bagasse. **Polymer Degradation and Stability**. Yangling, v.84, n.2, p.331–339, May.2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2004.02.008>.

SUN, J. X.; XU, F.; SUN, X. F.; XIAO, B.; SUN, R. C. Physico-chemical and thermal characterization of cellulose from barley straw. **Polymer Degradation and Stability**. Yangling, v.88, n.3, p.521–531, June.2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2004.12.013>.

SUZUKI, T.; HAYASHI, K.; FUJIKAWA, K.; TSUKAMOTO, K. The chemical structure of polymyxin E: the identities of polymyxin E<sub>1</sub> with colistin A and of Polymyxin E<sub>2</sub> with colistin B. **Journal of Biochemistry**. Osaka, v.57, n.2, p.226–227, Feb.1965. DOI: <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jbchem.a128082>.

SYLDATK, C.; LANG, S.; WAGNER, F.; WRAY, V.; WITTE, L. Chemical and physical characterization of four interfacial-active rhamnolipids from *Pseudomonas* spec. DSM 2874 grown on n-alkanes. **Zeitschrift fur Naturforschung. Section C, Biosciences**. v.40, n.1–2, p.51–60, Jan-Feb.1985. DOI: <https://doi.org/10.1515/znc-1985-1-212>.

TAN, Y. N.; LI, Q. Microbial production of rhamnolipids using sugars as carbon sources.

**Microbial Cell Factories.** Singapore, v.17, n.1, p.89, June.2018. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12934-018-0938-3>.

TERRASAN, C. R. F.; TEMER, B.; DUARTE, M. C. T.; CARMONA, E. C. Production of xylanolytic enzymes by *Penicillium janczewskii*. **Bioresource Technology.** Rio Claro, v.101, n.11, p.4139–4143, June.2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.01.011>.

TISO, T.; THIES, S.; MÜLLER, M.; TSVETANOVA, L.; CARRARESI, L.; BRÖRING, S.; JAEGER, K.-E.; BLANK, L. M. Rhamnolipids: production, performance, and application. In: LEE, S. Y. Consequences of microbial interactions with hydrocarbons, oils, and lipids: production of fuels and chemicals. **Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology.** Springer, Cham, 2018. DOI: [https://doi.org/10.1007/978-3-319-50436-0\\_388](https://doi.org/10.1007/978-3-319-50436-0_388).

TIZAZU, B. Z.; MOHOLKAR, V. S. Kinetic and thermodynamic analysis of dilute acid hydrolysis of sugarcane bagasse. **Bioresource Technology.** Assam, v.250, p.197–203, Fev.2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.11.032>.

TRIPATHY, D. B; MISHRA, A. Sustainable biosurfactants. **Encyclopedia of Inorganic and Bioinorganic Chemistry.** Sept.2016. DOI: <https://doi.org/10.1002/9781119951438.eibc2433>.

VANDANA, P.; SINGH, D. Review on biosurfactant production and its application. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences.** Allahabad, v.7, n.8, p. 4228–4241, 2018. DOI: <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.708.443>.

VAJZOVIC, A., BURA, R.; KOHLMIEIER, K.; DOTY, S. L. Novel endophytic yeast *Rhodotorula mucilaginosa* strain PTD3 II: production of xylitol and ethanol in the presence of inhibitors. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology.** Seattle, v.39, p.1453–1463. June.2012. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10295-012-1154-5>.

VECINO, X.; RODRÍGUEZ-LÓPEZ, L.; GUDIÑA, E.J.; CRUZ, J.M.; MOLDES, A.B.; RODRIGUES, L.R. Vineyard pruning waste as an alternative carbon source to produce novel biosurfactants by *Lactobacillus paracasei*. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry.** Braga, v.55, p.40–49, Nov.2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2017.06.014>.

WEN, C.; ZHANG, J.; DUAN, Y.; ZHANG, H.; MA, H. A mini-review on brewer's spent grain protein: Isolation, physicochemical properties, application of protein, and functional properties of hydrolysates. **Journal of Food Science.** Zhenjiang, v.84, n.12, p.3330–3340, Dec.2019. DOI: <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14906>.

WHANG, L. M.; LIU, P-W.G.; MA, C.-C.; CHENG, S.-S.; Application of biosurfactants, rhamnolipid, and surfactin, for enhanced biodegradation of diesel-contaminated water and soil. **Journal of Hazardous Materials.** Taiwan, v.151, n.1, p.155–163, Feb.2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.05.063>.

WHITE, D. A.; HIRD, L. C.; ALI, S. T. Production and characterization of a trehalolipid biosurfactant produced by the novel marine bacterium *Rhodococcus* sp., strain PML026. **Journal of Applied Microbiology.** Devon, v.115, n.3, p.744–755, Sept.2013. DOI: <https://doi.org/10.1111/jam.12287>.

WHITE, J. S.; YOHANNAN, B. K.; WALKER, G. M. Bioconversion of brewer's spent grains to bioethanol. **FEMS Yeast Research**. Scotland, v.8, n.7, p.1175–1184, Nov.2008. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1567-1364.2008.00390.x>.

XIROS, C.; TOPAKAS, E.; KATAPODIS, P.; CHRISTAKOPOULOS, P. Hydrolysis and fermentation of brewer's spent grain by *Neurospora crassa*. **Bioresource Technology**. Athens, v.99, n.13, p.5427–5435, Sept.2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.11.010>.

XIROS, C.; CHRISTAKOPOULOS, P. Enhanced ethanol production from brewer's spent grain by a *Fusarium oxysporum* consolidated system. **Biotechnology for Biofuels**. Athens, v.2, n.1, p.4, Feb.2009. DOI: <https://doi.org/10.1186/1754-6834-2-4>.

XIROS, C.; CHRISTAKOPOULOS, P. Biotechnological potential of brewers spent grain and its recent applications. **Waste and Biomass Valorization**. Athens, v.3, n.2, p.213–232, Feb.2012. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12649-012-9108-8>.

YEH, M.-S.; WEI, Y.-H.; CHANG, J.-S. Enhanced production of surfactin from *Bacillus subtilis* by addition of solid carriers. **Biotechnology Progress**. Taiwan, v.21, n.4, p.1329–1334, Jul.-Aug.2008. DOI: <https://doi.org/10.1021/bp050040c>.

YOON, S. H.; RHEE, J. S. Lipid from yeast fermentation: Effects of cultural conditions on lipid production and its characteristics of *Rhodotorula glutinis*. **Journal of the American Oil Chemists' Society**. Seoul, v.60, n.7, p.1281–1286, July.1983. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF02702101>.

ZHANG, L. Lignin Chemistry and Applications. 1st. ed. Cambridge: Elsevier, 2019.

ZHAO, J.; XIA, L. Ethanol production from corn stover hemicellulosic hydrolysate using immobilized recombinant yeast cells. **Biochemical Engineering Journal**. Hangzhou, v.49, n.1, p.28–32, Mar.2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bej.2009.11.007>.

ZHU, Z.; ZHANG, F.; WEI, Z.; RAN, W.; SHEN, Q. The usage of rice straw as a major substrate for the production of surfactin by *Bacillus amyloliquefaciens* XZ-173 in solid-state fermentation. **Journal of Environmental Management**. Nanjing, v.127, p.96–102, Sept.2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2013.04.017>.

ZINJARDE, S. S.; PANT, A. Emulsifier from a tropical marine yeast, *Yarrowia lipolytica* NCIM 3589. **Journal of Basic Microbiology**. Pune, v.42, n.1, p.67-73, 2002. DOI: [https://doi.org/10.1002/1521-4028\(200203\)42:1<67::AID-JOBM67>3.0.CO;2-M](https://doi.org/10.1002/1521-4028(200203)42:1<67::AID-JOBM67>3.0.CO;2-M).

# CAPÍTULO 2

---

## *Xilose uma fonte de carbono para produção de biossurfactante: mini revisão*

### RESUMO

A xilose é o segundo monossacarídeo mais abundante na natureza. Os monômeros de xilose fazem parte da estrutura da hemicelulose, que apresenta estrutura amorfa e é facilmente degradada pela hidrólise ácida. A xilose é bastante estudada para produção de xilitol e biocombustíveis, no entanto, ainda é pouco explorada para produção de biossurfactantes, que são moléculas de superfície ativa com propriedades emulsificantes, biodegradáveis e não são tóxicos ao ambiente. Bactérias, fungos e leveduras são bastante estudados para produção de biossurfactantes a partir de diferentes carboidratos, óleos e hidrocarbonetos, mas há poucos relatos na literatura sobre a produção de biossurfactantes a partir de hidrolisados hemicelulósicos ricos em xilose. Alguns trabalhos mostram que bactérias e leveduras geralmente produzem glicolipídios a partir de hidrolisados hemicelulósicos. Devido as diferentes propriedades dos glicolipídios estes podem ser empregados em diferentes áreas da indústria, pois podem ser aplicados como biorremediadores, bioinseticidas e antimicrobianos.

**Palavras-chave:** Açúcares. Hemicelulose. Microorganismos. Hidrolisados. Tensoativos biológicos.

**ABSTRACT**

Xylose is the second most abundant monosaccharide in nature. Xylose monomers are part of the structure of hemicellulose, which shows amorphous structure and is easily degraded by acid hydrolysis. Xylose is widely studied for xylitol and biofuels production; however, it is still little explored for the production of biosurfactants, which are active surface molecules with emulsifying properties, are biodegradable and are non-toxic to the environment. Bacteria, fungi, and yeasts are extensively studied for the production of biosurfactants from different carbohydrates, oils and hydrocarbons, but there are few reports in the literature about the production of biosurfactants from hemicellulosic hydrolysates rich in xylose. Some studies show that bacteria and yeasts generally produce glycolipids from hemicellulosic hydrolysates. Due to the different properties of glycolipids, they can be used in different areas of industry, as they can be applied as bioremediators, bioinsecticides and antimicrobials.

**Keywords:** Sugars. Hemicellulose. Microorganisms. Hydrolysates. Biological surfactants.

## 1. INTRODUÇÃO

Dentre os açúcares que compõem a estrutura da hemicelulose, a xilose (pentose com 5 átomos de carbono) é um dos principais (RODRIGUES *et al.*, 2017; HARAHA, 2020), apresentando fórmula molecular  $C_5H_{10}O_5$ . Além disso, é o segundo açúcar mais abundante derivado da biomassa lignocelulósica depois da glicose ( $C_6H_{12}O_6$ ) (SILVA *et al.*, 2010; CHEN, 2017; RODRIGUES *et al.*, 2017).

O uso de hidrolisados hemicelulósicos, ricos em pentoses, representa uma forma sustentável de reciclar biomassas lignocelulósicas, que são resíduos da produção agroindustrial em larga escala. Técnicas de conversão de lignoceluloses em xilose são bastante difundidas (HARAHA, 2020) e, nos últimos anos, os processos de fermentação que utilizam xilose como matéria-prima têm recebido grande atenção das indústrias devido à xilose ser facilmente obtida em grandes quantidades, e também pode ser convertida em xilitol e etanol por microrganismos durante os processos de fermentação (CHENG *et al.*, 2011; VILELA *et al.*, 2015; RODRUSSAMEE *et al.*, 2018; AHUJA *et al.*, 2020; FAN *et al.*, 2020; TAMBURINI *et al.*, 2019).

Como existem poucos relatos na literatura sobre a capacidade dos microrganismos em converter xilose em metabólitos com capacidade surfactante (PORTILLA-RIVERA *et al.*, 2009; JAIN *et al.*, 2013; MOLDES *et al.*, 2013; JOSHI-NAVARE *et al.*, 2014; KONISHI *et al.*, 2015; CORTÉS-CAMARGO *et al.*, 2016; CHEN *et al.*, 2019; PANJIAR *et al.*, 2020), esta revisão teve como objetivo discutir exclusivamente sobre a obtenção de hidrolisados hemicelulósicos ricos em xilose, para a produção de biossurfactantes por bactérias e leveduras.

## 2. METODOLOGIA

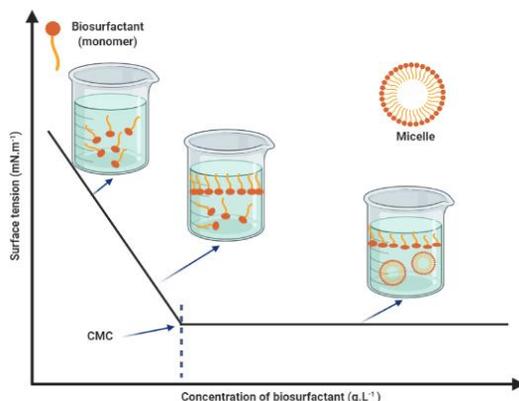
Este estudo é uma revisão da literatura sobre a utilização da biomassa lignocelulósica, rica em xilose, para a produção de biossurfactante por microrganismos. A revisão abrange artigos e livros científicos disponíveis nas bases de dados de indexação: *Scielo (Scientific Electronic Library Online)*, *Google Scholar*, *ScienceDirect*, *PubMed* e *Wiley Online Library*. A busca de artigos nas diferentes bases de dados foi realizada usando diferentes termos como: biossurfactantes, surfactantes microbianos, surfactantes biológicos, biomassa lignocelulósica, lignocelulose, resíduo agroindustrial, hidrólise ácida, tratamento ácido ou químico, fonte de carbono (xilose). A escolha dos artigos nesse estudo foi atemporal.

### 3. BIOSSURFACTANTES: SURFACTANTES DE ORIGEM BIOLÓGICA

Microrganismos como bactérias, fungos e leveduras podem sintetizar moléculas de propriedades emulsificantes e de superfície ativa, chamadas de biossurfactantes (CHEN *et al.*, 2019; MARCELINO *et al.*, 2019; HU *et al.*, 2020). Os biossurfactantes são compostos de natureza anfifílica contendo um grupo hidrofílico e um hidrofóbico denominado cabeça e cauda, respectivamente. Uma das principais propriedades dos biossurfactantes é a redução da tensão superficial (TS) e da tensão interfacial (TI) entre as diferentes fases (líquido-ar, líquido-líquido) e aumento da solubilidade de compostos imiscíveis (AKBARI *et al.*, 2018). Um biossurfactante é considerado eficaz quando reduz a TS da água de 72 mN/m para valores iguais ou inferiores a 40 mN/m (HABA *et al.*, 2000; JOSHI-NAVARE *et al.*, 2014; CORTÉS-CAMARGO *et al.*, 2016; PANJIAR *et al.*, 2020), e reduz o TI entre líquidos com diferentes graus de polaridade, como entre água e hexadecano, de 40 mN/m a 1 mN/m (MULLIGAN, 2005).

A eficiência dos biossurfactantes pode ser medida através da concentração micelar crítica (CMC). Os melhores biossurfactantes apresentam CMC inferior a 200 mg/L (CORTÉS-CAMARGO *et al.*, 2016; ASHISH e DEBNATH, 2018; NOGUEIRA FELIX *et al.*, 2019). A CMC é a menor concentração de surfactante necessária para a redução máxima de TS, quando a CMC é atingida, os monômeros dos biossurfactantes se associam formando as micelas, vesículas ou lamelas e, a partir da formação das micelas, a TS permanecerá constante ou a mudança será muito pequena (Figura 1) (NGUYEN *et al.*, 2008; WHANG *et al.*, 2008). A CMC é influenciada pelo pH do solvente, temperatura e força iônica (MULLIGAN, 2005; SANTOS *et al.*, 2016; SHARMA, 2016; AKBARI *et al.*, 2018).

**Figura 1** - Relação entre a concentração de biossurfactante (g/L), tensão superficial (mN/m) e formação de micelas. Imagem criada com *BioRender.com*.



Created in BioRender.com bio

Fonte: Vieira-Neta *et al.* (2021).

Os biossurfactantes também têm a capacidade de formar emulsões estáveis por 24 horas ou mais (WILLUMSEN e KARLSON, 1996; MARCELINO *et al.*, 2019; PANJIAR *et al.*, 2020). A emulsão é formada quando o surfactante se acumula entre as fases e diminui a TS e a TI, formando a emulsão (AKBARI *et al.*, 2018). Outra propriedade importante dos biossurfactantes é a biodegradabilidade, pois são facilmente degradados por microrganismos presentes no meio ambiente e possuem baixa toxicidade, ao contrário dos surfactantes sintéticos que são derivados do petróleo e são de difícil decomposição, podendo causar poluição ambiental (SHARMA, 2016).

Como os biossurfactantes são biodegradáveis e apresentam baixa toxicidade, tornam-se uma alternativa aos seus homólogos químicos, sendo de interesse para aplicações em diversas áreas da indústria (alimentícia, farmacêutica e cosmética) e ambiental (biorremediação) (SANTOS *et al.*, 2016; SHARMA, 2016; AKBARI *et al.*, 2018; ASHISH e DEBNATH, 2018).

Os biossurfactantes são caracterizados de acordo com sua origem microbiana e natureza química, podendo ser classificados pelo tamanho das moléculas, levando a uma classificação de biossurfactantes de baixo e alto peso molecular (Tabela 1). Biossurfactantes do tipo glicolipídios (ramnolipídios, sofrorolipídios (SLs), trealolipídios e lipídios de manosileritritol (MEL)), lipopeptídios (surfactina) e surfactantes poliméricos (emulsan) são amplamente estudados.

Uma das principais características dos ramnolipídios é a capacidade de reduzir a TS a valores de 29 mN/m, este biossurfactante é produzido principalmente por *Pseudomonas aeruginosa* a partir de vários substratos, como alcanos, piruvato, citratos, açúcares e óleos. Muitos estudos investigam a capacidade dos ramnolipídios em biodegradar hidrocarbonetos oriundos do petróleo (HABA *et al.*, 2000; NGUYEN *et al.*, 2008; SANTOS *et al.*, 2016). Os SLs são produzidos principalmente por leveduras do gênero *Candida* (KURTZMAN *et al.*, 2010; FARIA *et al.*, 2014; SAMAD *et al.*, 2014). SLs podem reduzir TS para aproximadamente 33 mN/m e TI entre n-hexadecano e água de 40 a 5 mN/m (DÍAZ DE RIENZO *et al.*, 2015).

Os MELs são biossurfactantes promissores devido à sua atividade antitumoral, podendo ser utilizados no tratamento de infecções microbianas (ARUTCHELVI *et al.*, 2008). Eles são sintetizados por espécies do *Pseudozyma genus* em substratos oleosos e açúcares (LANG, 2002; FARIA *et al.*, 2014). Trehalolipídios são sintetizados por espécies dos gêneros *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Corynebacterium*, *Arthrobacter* e *Rhodococcus* (VIJAYAKUMA e SARAVANAN, 2015). Porém, um fungo da espécie *Fusarium fujikuro* mostrou a capacidade de sintetizar este biossurfactante com capacidade de reduzir TS de 70 mN/m para 20 mN/m (REIS *et al.*, 2018).

**Tabela 1** - Classificação dos biossurfactantes e microrganismos produtores.

	Classes	Tipos	Microrganismos	Referências	
Baixo peso molecular	Ácido graxo		<i>Corynebacterium lepus</i>	Cooper <i>et al.</i> (1979)	
	Lipídios neutros		<i>Nocardia erythropolis</i>	Macdonald <i>et al.</i> (1981)	
	Fosfolipídios		<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Nwaguma <i>et al.</i> (2016)	
	Glicolipídios	Ramnolipídios		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Dobler <i>et al.</i> (2017)
		Soforolipídios		<i>Candida bombicola</i>	Samad <i>et al.</i> (2014)
		Trealolipídios		<i>Rhodococcus erythropolis</i>	Peng <i>et al.</i> (2007)
		Lipídios de manosileritritol		<i>Pseudozyma (Candida) antarctica</i>	Faria <i>et al.</i> (2014)
Lipopeptídios e Lipoproteínas	Surfactina		<i>C. tropicalis</i>	Ashish e Debnath (2018)	
			<i>B. subtilis</i>	Nogueira Felix <i>et al.</i> (2019) Freire <i>et al.</i> (2020)	
Alto peso molecular	Surfactantes poliméricos	Emulsan	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	Amani e Kariminezhad (2016)	
		Liposan	<i>C. lipolytica</i>	Cirigliano e Carman (1984)	
		Biodispersan	<i>A. calcoaceticus</i>	Shabtai (1990)	
		Yansan	<i>Yarrowia lipolytica</i>	Amaral <i>et al.</i> (2006)	
		Manana-lipídio-proteína	<i>P. aeruginosa</i>	Käppeli <i>et al.</i> (1984)	

Fonte: Vieira-Neta *et al.* (2021).

A surfactina produzida principalmente por *Bacillus subtilis*, é um biossurfactante bastante estudado por apresentar alta atividade de superfície. Com uma CMC de  $10^{-5}$  m, reduz a TS para 27 mN/m (CHEN *et al.*, 2015). Além disso, a surfactina tem atividade antimicrobiana e antifúngica (WHANG *et al.*, 2008; CHEN *et al.*, 2015; WILLENBACHER *et al.*, 2015; CHEN *et al.*, 2019; HU *et al.*, 2020).

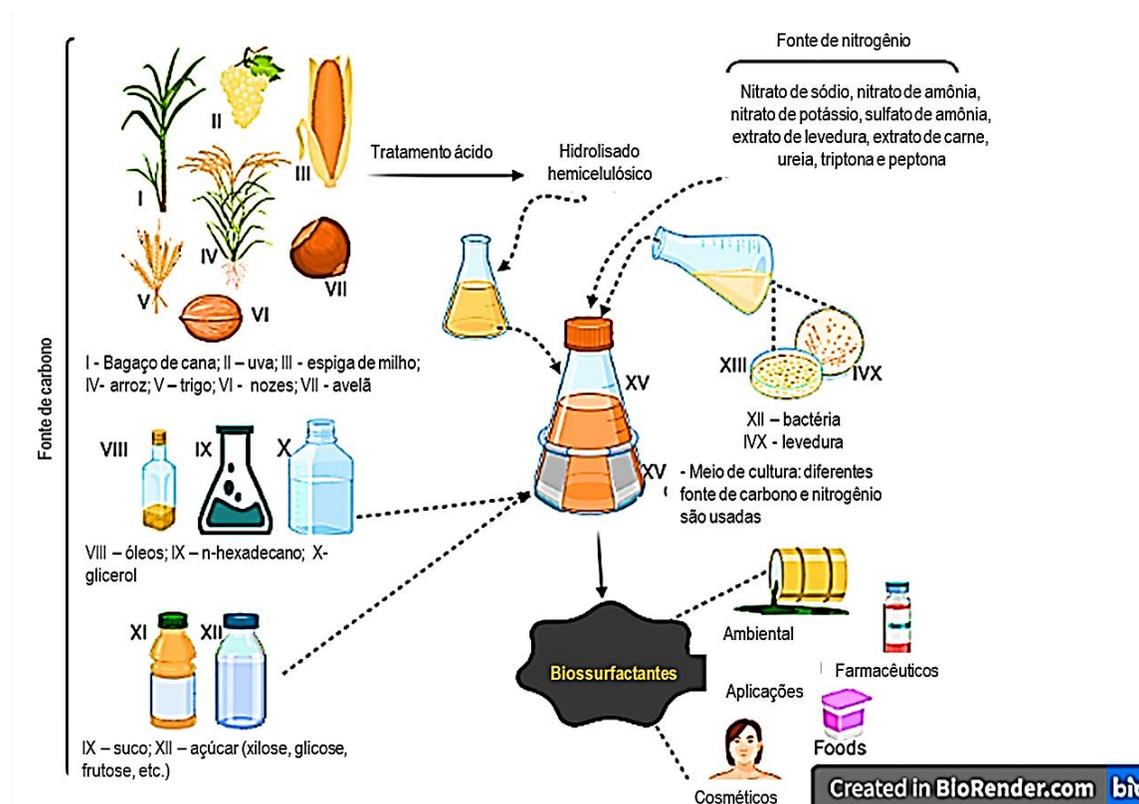
O Emulsan é um emulsificante para hidrocarbonatos em água, produzido principalmente por cepas de *Acinetobacter* (AMANI e KARIMINEZHAD, 2016; SANTOS *et al.*, 2016). A CMC de 30 mg/L do emulsan produzido por *A. calcoaceticus* emulsifica 98% do petróleo e a TS e TI são reduzidas para 24 mN/m e 3 mN/m, respectivamente (AMANI e KARIMINEZHAD, 2016).

#### 4. IMPORTÂNCIA DAS FONTES DE CARBONO E NITROGÊNIO PARA A PRODUÇÃO DE BIOSURFACTANTES

A fonte de carbono e nitrogênio desempenha um papel importante no crescimento e produção de biossurfactantes por microrganismos de várias espécies. No entanto, a concentração necessária de carbono e nitrogênio varia de espécie para espécie (HABA *et al.*, 2000; SANTA ANNA *et al.*, 2002; KONISHI *et al.*, 2015; ARCHANA *et al.*, 2016; SANTOS *et al.*, 2016; HU *et al.*, 2020).

Diferentes substratos podem ser usados como fonte de carbono para a produção de biossurfactantes por microrganismos (Figura 2), como hidrocarbonetos, carboidratos, óleos vegetais e óleos de processos de fritura. Além disso, resíduos industriais e biomassas lignocelulósicas, oriundos da agroindústria, também podem ser utilizados na produção de biossurfactantes (Tabela 2). Muitos estudos têm dado mais atenção ao uso de biomassas lignocelulósicas (MOLDES *et al.*, 2007; MARCELINO *et al.*, 2017; MARCELINO *et al.*, 2019; HU *et al.*, 2020; PANJIAR *et al.*, 2020), que possibilita a produção de biossurfactantes com redução de até 50% no preço do produto, tendo em vista que os biossurfactantes não competem com os sintéticos porque o valor de produção dos mesmos é oneroso. Portanto, para conquistar mercado, ser comercializado e competir com os tensoativos sintéticos, os biossurfactantes devem ser produzidos a baixo custo.

**Figura 2** - Substratos usados como fonte de carbono e nitrogênio para produção de biossurfactantes pelos microrganismos, criado com *BioRender.com*.



Fonte: Vieira-Neta *et al.* (2021).

O carboidrato mais estudado para a produção de biossurfactantes é a glicose convencional e a obtida da biomassa lignocelulósica, mas alguns estudos estão explorando a xilose das lignoceluloses para a produção de surfactantes (KONISHI *et al.*, 2015; MARCELINO *et al.*, 2017; HU *et al.*, 2020). No entanto, durante a fermentação dos hidrolisados hemicelulósicos, que são compostos por pentose e hexoses, a glicose pode inibir o metabolismo da xilose por supressão ou inativação do sistema de transporte da xilose ou enzimas catabólicas (PORTILLA-RIVERA *et al.*, 2007). Portanto, a taxa de assimilação de xilose por microrganismos torna-se muito mais lenta do que as taxas de assimilação de glicose (OSIRO *et al.*, 2018). Além disso, poucos estudos demonstraram que microrganismos como as leveduras, quando cultivados em xilose, são muito eficientes na produção de metabólitos secundários, porém, podem ser inibidos ou diminuídos quando a principal fonte de carbono é a glicose (TURNER *et al.*, 2015; KIM *et al.*, 2017; PANJIAR *et al.*, 2020).

Outros estudos relataram que a repressão catabólica pode ocorrer na produção de biossurfactantes quando a glicose é usada como a principal fonte de carbono (HAUSER e KARNOVSKY, 1954; DUVNJAK *et al.*, 1982; CIRIGLIANO e CARMAN, 1984). Nesses trabalhos, foi identificado que, após o consumo de glicose, inicia-se a produção de biossurfactantes sob condições de estresse para a célula.

Em relação ao nitrogênio, nos processos fermentativos, quando ocorrem baixos níveis de nitrogênio, o crescimento bacteriano pode ser limitado, direcionando para a produção de metabólitos. Em contraste, o excesso de nitrogênio pode limitar a produção de biossurfactantes (SANTOS *et al.*, 2016; VIGNESHWARAN *et al.*, 2016). As fontes de nitrogênio utilizadas para a produção de biossurfactantes por microrganismos podem ser orgânicas ou inorgânicas (Figura 2). Na literatura, há relatos que diversos sais como nitrato de sódio, nitrato de amônio, nitrato de potássio e sulfato de amônio são usados como fontes de nitrogênio inorgânico e extrato de levedura, extrato de carne, ureia, triptona e peptona são fontes de nitrogênio orgânico (Tabela 2) (SANTOS *et al.*, 2016; NURFARAHIN *et al.*, 2018). A produção de biossurfactantes geralmente ocorre quando o nitrogênio é esgotado no meio de cultura durante a fase estacionária da célula (NURFARAHIN *et al.*, 2018).

**Tabela 2** - Fontes de carbono e nitrogênio utilizadas para produção de biossurfactantes pelos microrganismos. (continua)

Carbono	Nitrogênio	Espécies	Tipos de BS	Referências
Casca de avelã e de nozes e bagaço de uva destilado	Extrato de levedura, Licor de maceração do milho	<i>Lactobacillus pentosus</i>	nd	Portilla-Rivera <i>et al.</i> (2008)
Palha de arroz (hidrolisado hemicelulósico)	Licor de maceração de milho, casca de soja, torta de óleo de semente de algodão, (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> e NaNO <sub>3</sub> , ureia	<i>Serratia nematodiphila</i>	Xilolipídios	Panjiaret <i>et al.</i> (2020)
Palha de arroz (hidrolisado enzimático)				
N-hexadecano, óleo parafínico, glicerol e óleo de babaçu	NaNO <sub>3</sub> , (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> e CH <sub>4</sub> N <sub>2</sub> O	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ramnolipídios	Santa Anna <i>et al.</i> (2002)
Glicose, glicerol, frutose e amido	Ureia, nitrato de amônio, extrato de levedura, peptona e cloreto de amônio	<i>P. aeruginosa</i> (MTCC 7815)	nd	Archana <i>et al.</i> , (2016)
Hidrolisado de sabugo de milho	Resíduos do hidrolisado de penas e resíduos da fábrica de glutamato	<i>Bacillus subtilis</i> BS-37	Surfactina	Chen <i>et al.</i> (2019)
Hidrolisado hemicelulósico e celulósico do broto de videira	NaNO <sub>3</sub> , Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , NaCl e extrato de levedura	<i>B. tequilensis</i> ZSB10	nd	Cortés-Camargo <i>et al.</i> (2016)
D-xilose, D-glicose e mistura de D-xilose/D-glicose	Nitrato de sódio	<i>Pseudozyma antarctica</i> PYCC5048 <sup>T</sup> , <i>P. Aphidis</i> PYCC5535 <sup>T</sup> e <i>P. Rugulosa</i> PYCC5537 <sup>T</sup>	MEL	Faria <i>et al.</i> (2014)
Suco de caju clarificado	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , NaCl	<i>B. subtilis</i> LAMI005	Surfactina	Nogueira Felix <i>et al.</i> (2019)
Óleos residuais de fritura	Nitrato de sódio	<i>P. aeruginosa</i> 47T2	Ramnolipídios	Habaet <i>et al.</i> (2000)
Hidrolisado de espiga de milho	Água residual de glutamato monossódico	<i>B. subtilis</i> 168	Surfactina	Hu <i>et al.</i> (2020)
Xilose e ácido oleico	Nitrato de sódio	<i>Pichiacaribbica</i>	Xilolipídio	Joshi-Navare <i>et al.</i> , (2014)
Hidrolisado de espiga de milho	NH <sub>4</sub> (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	<i>Starmerella bombicola</i> NBRC 1024	Soforolipídios	Konishi <i>et al.</i> , (2015)
Hidrolisado do bagaço de cana	Extrato de levedura e nitrato de amônia	<i>Scheffersomyces stipitis</i> NRRL Y-7124	Glicolipídios	Marcelino <i>et al.</i> (2019)

**Tabela 2** - Fontes de carbono e nitrogênio utilizadas para produção de biossurfactantes pelos microrganismos. (conclusão)

Hidrolisados hemicelulósicos de resíduos de poda de vinhas	Extrato de levedura e licor de maceração de milho	<i>L. pentosus</i> CECT-4023 <sup>T</sup>	Glicoproteína /glicolipopeptídio	Moldes <i>et al.</i> (2013)
Dextrose, frutose, glicose, glicerol, amido e sacarose	Asparagina, NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> , peptona, ureia e extrato de levedura	<i>Klebsiella pneumoniae</i> IVN51	Fosfolipídios	Nwaguma <i>et al.</i> , (2016)

nd –não determinado, BS - biossurfactante. Fonte: Vieira-Neta *et al.* (2021).

## 5. HIDRÓLISE DE BIOMASSAS LIGNOCELULÓSICAS E PRODUÇÃO DE BOSSURFACTANTE A PARTIR DE HIDROLISADOS HEMICELULÓSICOS RICOS EM XILOSE

A hemicelulose apresenta estrutura amorfa, com cadeia linear apresentando ramificações e menor grau de polimerização (~100-200). Devido a essas características, a estrutura da hemicelulose torna-se fácil de hidrolisar (LAVARACK *et al.*, 2002; AHMAD e ZAKARIA, 2019; HARAHAP, 2020).

O princípio da técnica de hidrólise consiste em aplicar a temperatura e pressão para facilitar a penetração do ácido nas fibras, e então liberar os monossacarídeos presentes na estrutura da hemicelulose (LAVARACK *et al.*, 2002; CHEN e WANG, 2017). A despolimerização da hemicelulose via hidrólise ácida é uma forma comumente usada para solubilização dos monossacarídeos (HARAHAP, 2020), sendo a xilose o principal monossacarídeo produzido. Sua produção pode variar de 75% a 90% nos hidrolisados, e em menor quantidade ocorre a produção de glicose e arabinose (MUSSATTO e TEIXEIRA, 2010; RODRIGUES *et al.*, 2017).

Dependendo das condições nos processos de hidrólise, pode ocorrer a formação de ácido acético e produtos da degradação de açúcares como o furfural e hidroximetilfurfural (HMF) (MUSSATTO e TEIXEIRA, 2010; CHEN e WANG, 2017; RODRIGUES *et al.*, 2017). A presença destes nos hidrolisados, podem ser tóxicas para o metabolismo celular dos microrganismos durante processos os fermentativos (MUSSATTO *et al.*, 2005; ZHANG *et al.*, 2011; RODRIGUES *et al.*, 2017; PANJIAR *et al.*, 2020). A concentração desses compostos nos hidrolisados varia bastante, dependo da biomassa lignocelulósica e das condições de hidrólise utilizada (MUSSATTO *et al.*, 2005; SILVA *et al.*, 2010; MARCELINO *et al.*, 2019; PANJIAR *et al.*, 2020).

Os ácidos gerados na hidrólise de biomassas são ácidos fracos, no entanto, devido serem solúveis em gorduras os ácidos conseguem atravessar a membrana celular dos microrganismos, provocando mudanças no pH e no citoplasma, e com isso inibem o crescimento microbiano, geralmente ácidos fracos são usados para conservar alimentos (CHEN e WANG, 2017). O ácido acético é formado quando ocorre a liberação dos grupos acetil da xilanas (HARAHAP, 2020). Mussatto *et al.* (2005), demonstram que concentrações superiores a 3.0 g/L de ácido acético influenciam na produção de xilitol pela *Meyerozyma guilliermondii*, sendo esta concentração de ácido fortemente tóxica para a levedura, mas concentrações inferiores a esse valor não afeta o metabolismo da levedura.

O furfural geralmente é formado nos hidrolisados quando ocorre degradação da xilose e arabinose, já o HMF é formado se houver a degradação da glicose (ROBERTO *et al.*, 1991; MUSSATTO *et al.*, 2005; ZHANG *et al.*, 2011). Um estudo realizado recentemente por Panjjar *et al.* (2020) relataram que a *Serratia nematodiphila* também suporta essa concentração (3.0 g/L) de ácido acético, HMF e furfural presentes em hidrolisados da palha de arroz usados durante a fermentação para produção de biossurfactante. É evidente que a inibição do metabolismo celular dos microrganismos pela ação desses compostos varia de espécie para espécie.

Em outros estudos, visando analisar a influência dos subprodutos no metabolismo dos microrganismos, Cheng *et al.* (2011) demonstram que levedura *Candida maltosa* consegue metabolizar tanto furfural quanto o HMF, presentes no licor de xilose. Zhang *et al.* (2011) também demonstraram que a levedura *Rhodotorula glutinis* consegue metabolizar o ácido acético e furfural quando no meio de cultivo está presente a fonte de carbono xilose. Porém na presença da glicose esses compostos inibem o crescimento da levedura. Ask *et al.* (2013) também relataram que os subprodutos furfural e HMF interferem na assimilação de açúcares pela *Saccharomyces cerevisiae*. Na presença desses compostos, a taxa de absorção da glicose é bastante reduzida quando comparada com a taxa de absorção da xilose.

A desintoxicação biológica pode ser realizada para remover furfural e HMF dos hidrolisados (CHENG *et al.*, 2011; ZHANG *et al.*, 2013; RAN *et al.*, 2014), podendo ser realizada a desintoxicação dos mesmos com o carvão ativado, geralmente é o mais utilizado (MUSSATTO *et al.*, 2005; KONISHI *et al.*, 2015; MARCELINO *et al.*, 2019). No entanto, o uso do carvão ativado pode aumentar o custo total de produção (KONISHI *et al.*, 2015). Portanto, é fundamental o controle das condições estabelecidas nos processos de hidrólise para

minimizar as concentrações de compostos tóxicos durante a despolimerização da hemicelulose.

A hidrólise da hemicelulose com ácido diluído, em condições brandas de tratamento é adequada para a produção de xilose (JI *et al.*, 2017; RODRIGUES *et al.*, 2017; TIAN *et al.*, 2017; MARCELINO *et al.*, 2019). O tratamento térmico pode ser realizado em temperatura elevada (180 °C) por um período de poucos minutos (5 min), ou em baixa temperatura (120 °C) por um tempo de 30 a 90 min (MUSSATTO *et al.*, 2005; RODRIGUES *et al.*, 2017). Mas o processo mais indicado é o tratamento com ácido diluído e hidrólise em baixa temperatura (120 °C), pois nessas condições os inibidores são produzidos em menor quantidade e a xilose em maior quantidade (RODRIGUES *et al.*, 2017).

O ácido sulfúrico diluído (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) é comumente utilizado para solubilizar a hemicelulose devido ao baixo custo e alta eficiência (PORTILLA-RIVERA *et al.*, 2008; JI *et al.*, 2017; TIAN *et al.*, 2017; MARCELINO *et al.*, 2019). Ácidos como o clorídrico (HCl), nítrico (HNO<sub>3</sub>) e fosfórico (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>), também podem ser usados para a degradar a hemicelulose (RODRIGUES *et al.*, 2017; HARAHAHAP, 2020). Outros ácidos menos corrosivos como, ácido maleico e fumárico, podem ser usados na degradação da hemicelulose, mas a eficiência desses ácidos no processo de hidrólise é inferior à eficiência do ácido sulfúrico (RUSANEN *et al.*, 2017).

Os hidrolisados hemicelulósicos resultantes da degradação das fibras de hemicelulose com ácido, apresentam pH muito ácido (pH 1,0), e para serem usados em processos fermentativos, esses devem ser neutralizados, geralmente as bases mais usadas para ajustar o pH são CaCO<sub>3</sub>, NaOH, Ca(OH)<sub>2</sub> (PORTILLA-RIVERA *et al.*, 2008; CORTÉS-CAMARGO *et al.*, 2016; CHEN *et al.*, 2019).

É evidente que diferentes ácidos podem ser usados para degradar as fibras da hemicelulose (Tabela 3), e os hidrolisados oriundos dessa degradação são ricos em açúcares fermentáveis, principalmente em xilose, que atualmente estão sendo explorados para produção de biossurfactantes.

**Tabela 3** - Concentração de açúcares (g/L) em biomassas lignocelulósicas usadas para a produção de biossurfactante por diferentes microrganismos.

Biomassas lignocelulosicas	Açúcares (g/L)			Espécie	Referências
	Xilose	Glicose	Arabinose		
Casca de farelo de cevada	40,7	5,8	7,4		
Poda de videira	19,1	9,1	2,8		Moldes <i>et al.</i> (2007)
Espiga de milho	36,9	2,7	4,1		
<i>Eucalyptus globulus chip</i>	19,5	2,2	1,2	<i>Lactobacillus pentosus</i>	
Poda de videira	18,0	10,6	3,9		Moldes <i>et al.</i> (2013)
Bagaço de uva	8,2	2,2	2,1		Portilla-Rivera <i>et al.</i> (2008)
Casca de avelã	20,0	0,6	0,6		
Casca de nozes	18,4	1,3	1,6		
Bagaço de cana	58,76	3,67	4,3	<i>Cutaneotrichosporon mucooides</i>	Marcelino <i>et al.</i> (2019)
				<i>Scheffersomyces stipitis</i>	Marcelino <i>et al.</i> (2017)
Sabugo de milho	13,6	4,9	1,2	<i>Bacillus subtilis</i> 168	Hu <i>et al.</i> (2020)
	17,5	1,5	6,2	<i>B. subtilis</i> BS-37	Chen <i>et al.</i> (2019)
Palha de arroz	22,0	2,0	nd	<i>Serratia nematodiphila</i>	Panjiar <i>et al.</i> (2020)

nd – não determinado. Fonte: Vieira-Neta *et al.* (2021).

A bactéria probiótica *L. pentosus* ATCC-8041 foi estudada quanto à produção de biossurfactantes a partir de açúcares provenientes de resíduos do bagaço de uva destilado e hidrolisados de cascas de avelãs (PORTILLA-RIVERA *et al.*, 2008), e em açúcares de hidrolisados hemicelulósicos provenientes da poda de vinhedos (PORTILLA-RIVERA *et al.*, 2009). O primeiro estudo, mostra que o biossurfactante de bagaço de uva destilado e de cascas de avelãs hidrolisadas emulsionou 83% e 76,4% de querosene, respectivamente. A emulsificação é uma das propriedades que permite a utilização de biossurfactantes em processos de biorremediação em locais contaminados com hidrocarbonetos. No segundo estudo, o substrato influenciou as propriedades do biossurfactante, uma vez que o aumento da glicose, na ausência de xilose, produz um biossurfactante com baixa atividade superficial. No entanto, a combinação de xilose e glicose 1,5 g/L:3,5 g/L, respectivamente, fornece a melhor condição para produzir o biossurfactante.

Moldes *et al.* (2011) relataram que a partir dos açúcares hemicelulósicos, com composição semelhante aos hidrolisados de poda de vinhedos, suplementados com 10 g/L de extrato de levedura e 10 g/L de licor de maceração de milho, *L. pentosus* sintetizou um

biossurfactante com capacidade de degradação de hidrocarbonetos. Em 30 dias, 76% de 7.0000 mg/Kg do hidrocarboneto octano do solo foi solubilizado e degradado por microrganismos. Esse resultado indica que o biossurfactante produzido por essa bactéria pode ser utilizado em processos de biorremediação. Além disso, o mesmo foi classificado como glicoproteína (MOLDES *et al.*, 2013).

Resíduos de baixo custo como casca de farelo de cevada, poda de vinhedo, espiga de milho e *chip* de *Eucalyptus globulus* ricos em xilose e são promissores para a produção de biossurfactante por *L. pentosus*. Neste estudo, Moldes *et al.* (2007) relataram que a maior concentração de biossurfactante em g/L foi obtida a partir de hidrolisados de poda de vinhedo (6,5 g/L), reduzindo TS para 51 mN/m, seguido de sabugo de milho (4,7 g/L), hidrolisados desintoxicado *E. globulus* (4,0 g/L), sendo que a menor concentração de biossurfactante foi derivada de hidrolisados de casca de farelo de cevada (2,9 g/L). Os biossurfactantes reduziram a TS para 54, 55 e 56 mN.m<sup>-1</sup>, respectivamente. Segundo os autores, a diferença na produção do biossurfactante pode estar relacionada à composição química dos hidrolisados, que varia entre as biomassas.

Utilizando hidrolisados de bagaço de cana-de-açúcar compostos por 40 g/L, 2,7 g/L e 1,3 g/L de xilose, arabinose e glicose, respectivamente, Marcelino *et al.* (2017) relataram uma produção de 0,70 g/L de glicolipídios por *Scheffersomyces stipitis* NRRL Y-7124. Ao final do processo de fermentação (68 h), a levedura consumiu 100% de glicose e 60% de xilose, não havendo consumo da arabinose durante todo o processo de fermentação. O glicolipídio produzido reduziu a TS para 52 mN/m e emulsionou 70% do querosene, além de apresentar atividade inseticida, onde 800 mg/L de glicolipídios foi capaz de destruir o exoesqueleto de larvas de *Aedes aegypti* em 12 h, com concentração letal média (CL<sub>50</sub>) estimada em 600 mg/L. Este resultado indica que os glicolipídios podem ser usados em formulações de larvicidas usados contra vetores de doenças neotrópicas.

Marcelino *et al.* (2019) foram capazes de produzir SLs (11 g/L) por *C. mucoideus* UFMG-CM-Y6148 usando hidrolisados hemicelulósicos de bagaço de cana-de-açúcar (58,76 g/L xilose, 4,33 g/L arabinose, 3,67 g/L glicose). Além dos açúcares, os hidrolisados apresentaram 2,4 g/L, 0,07 g/L e 0,15 g/L de ácido acético, furfural e HMF, respectivamente. Após a desintoxicação dos hidrolisados com carvão ativado esses compostos não influenciaram no crescimento da levedura. No processo de fermentação, após 25 h e 96 h, a glicose e a xilose já haviam se esgotado, respectivamente. O SL emulsionou 65% de querosene e 51% de óleo

vegetal, além de exibir estabilidade em diferentes condições de pH, salinidade e temperatura. Porém o SL não reduziu a TS, segundo os autores, a força iônica da água pode ter interferido. No entanto, a estabilidade do biossurfactante é uma propriedade importante para que os biossurfactantes possam ser usados em processos industriais ou ambientais.

Alguns pesquisadores combinam fontes de carbono hidrofílicas e hidrofóbicas para aumentar a produção de biossurfactantes por microrganismos. Samad *et al.* (2014) utilizaram bagaço de sorgo e hidrolisados de fibra de milho como substrato para a produção de biossurfactantes por *C. (Starmerella) bombicola*, e atingiram 3,6 g/L e 1,0 g/L de SLs, respectivamente. Porém, após a suplementação dos hidrolisados com 100 g/L de óleo, a produção máxima foi de 84,6 g/L e 15,6 g/L de SLs, no bagaço de sorgo e nos hidrolisados de fibra de milho, respectivamente.

Em estudo realizado por Cortés-Camargo *et al.* (2016), foi demonstrado que *B. tequelensis* ZSB10 apresentou capacidade de crescimento e produção de 1,5 g/L de biossurfactante natural em meio de cultura contendo 50% de hidrolisado hemicelulósico e 50% de hidrolisado de celulose, proveniente da hidrólise com ácido diluído, seguida de hidrólise enzimática de resíduos de poda de videiras. O biossurfactante bruto produzido reduziu a TS para 38,6 mN/m e emulsionou 47% do querosene. No que se refere ao consumo de açúcar, após 52 h de fermentação, a glicose foi esgotada, enquanto 57,63% da xilose foi consumida no mesmo período. Isso mostra que a glicose é facilmente metabolizada por microrganismos, influenciando no consumo de xilose.

Chen *et al.* (2019), relataram que *B. subtilis* BS-37 produziu surfactina na concentração de 523 mg/L, quando cultivado em hidrolisados ricos em xilose. Já Hu *et al.* (2020), demonstraram que *B. subtilis* 168 geneticamente modificado produziu surfactina a partir da combinação de uma fonte de carbono (xilose comercial) com nitrogênio (triptona), consumindo 60% de 20 g/L xilose em 36 h. Para reduzir os custos de produção, os pesquisadores substituíram a xilose comercial por hidrolisado de espiga de milho (13,62 g/L xilose), combinada a 6% de água residual de glutamato monossódico e 1,0 g/L de triptona, resultando na produção de 2,032 mg/L de surfactina. Estes resultados mostraram as vantagens das cepas recombinantes em relação às cepas selvagens para a produção de surfactina.

Panjjar *et al.* (2020), relataram que a *Serratia nematodiphila* tem capacidade de produzir 4,5 g/L de glicolípídios a partir de hidrolisados hemicelulósicos da palha de arroz e, em menor concentração, 3,1 g/L de glicolípídios em hidrolisados enzimáticos (celulósicos). O glicolípídio

reduziu a TS para 26 mN/m e exibiu propriedades emulsificantes, pois emulsionou 72%, 70%, 20% e 79,6% de hexano, xileno, óleo diesel e óleo de palma, respectivamente. Além disso, o glicolípido produzido por *S. nematidophila* apresentou atividade antimicrobiana, nas concentrações de 6,5 µg/mL, 6,0 µg/mL e 10 µg/mL, que inibiu o crescimento de *B. pumilus* (Gram positivo), *P. aeruginosa* (Gram negativa) e a levedura *C. tropicalis*, respectivamente.

Alguns estudos demonstram a produção de biossurfactantes por leveduras em meio sintético utilizando xilose como fonte de carbono. Faria *et al.* (2014) relataram que as leveduras *Pseudozyma antarctica* PYCC5048<sup>T</sup>, *P. aphidis* PYCC 5535<sup>T</sup> e *P. rugulosa* PYCC 5537<sup>T</sup>, em um meio sintético composto por xilose (40 g/L), produziram MEL na concentração de 4,8, 1,2 e 2,8 g/L, respectivamente.

Joshi-Navare *et al.* (2014), relataram que, quando cultivaram *Pichia caribbica* em meio sintético contendo 100 g/L de xilose, obtiveram um xilolípido capaz de reduzir a TS para 35,9 mN/m com uma CMC de 1,0 mg/L. Além disso, a concentração inibitória mínima de 0,025 mg/mL do xilolípido bruto inibiu o crescimento da bactéria Gram positiva *Staphylococcus aureus*, essa ação inibitória indica que este biossurfactante pode ser utilizado na formulação de medicamentos.

Jain *et al.* (2013), também relataram que *Klebsiella* sp. RJ-03 produz 3,0 g/L de biossurfactante em meio de cultura suplementado com 30 g/L de xilose convencional. O biossurfactante exibiu a capacidade de reduzir a TS para 48,17 mN/m e emulsionar compostos como hexano, benzeno, tolueno, diclorometano, tetracloreto de carbono (50%), óleo de algodão e óleo de amendoim (60%).

É notável que essas bactérias e leveduras produzam biossurfactantes em meio sintético contendo xilose comercial ou em meio contendo hidrolisados hemicelulósicos ricos em xilose de diferentes biomassas lignocelulósicas tratadas com ácido diluído. No entanto, a maioria dos estudos relatados na literatura utilizam ácido diluído como pré-tratamento para lignocelulose, com o objetivo de degradar as fibras hemicelulósicas, deixando as fibras de celulose expostas à degradação enzimática, e conseqüente liberação de monossacarídeos de glicose, que são facilmente metabolizados por microrganismos durante os processos de fermentação. Outro fator é que a concentração de subprodutos da degradação enzimática é muito baixa e não influencia o metabolismo dos microrganismos, ao contrário dos subprodutos gerados pela degradação ácida.

Ficou evidente que, dependendo da espécie ao suplementar o meio com substrato oleoso, o rendimento na produção de biossurfactantes pode aumentar. Além disso, pode ser necessário suplementar os hidrolisados com nitrogênio orgânico ou inorgânico, visto que o nitrogênio é essencial para o metabolismo dos microrganismos. Os biossurfactantes produzidos a partir de hidrolisados possuem atividade superficial e emulsificantes, podendo ser utilizados na biorremediação de solos contaminados com hidrocarbonetos e, devido à ação inseticida e antimicrobiana, podem ser aplicados na formulação de inseticidas ou medicamentos.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Substratos convencionais à base de açúcar podem ser substituídos por biomassas lignocelulósicas, cujas fibras hemicelulósicas são degradadas e liberam açúcares fermentáveis, quando submetidos a tratamentos ácidos, e esses podem ser utilizados na produção de biossurfactantes. Isso, além de reduzir custos na produção de biossurfactantes, valoriza também resíduos e subprodutos das agroindústrias, tornando-se uma alternativa sustentável.

No que diz respeito aos microrganismos, a diversidade neste grupo é famosa, com tipos de biossurfactantes variando por gênero. *B. subtilis* apresentou capacidade de síntese de surfactina a partir de hidrolisados hemicelulósicos e em meio sintético suplementado com xilose. As leveduras podem sintetizar principalmente glicolipídios e lipopeptídios com fontes de carbono de hidrolisado hemicelulósico, MELs e xilolipídios, em meio sintético. Assim, com o hidrolisado hemicelulósico rico em pentoses como a xilose, é uma possibilidade de aumentar a produção de produtos do metabolismo secundário.

Em resumo, os biossurfactantes são biomoléculas multifuncionais, pois apresentam diferentes propriedades físico-químicas, possibilitando sua aplicação em diferentes áreas. Além disso, devido à alta biodegradabilidade e baixa toxicidade, eles são adequados para substituir os surfactantes sintéticos. A produção de biossurfactantes a partir de hidrolisados hemicelulósicos é promissora, entretanto, há necessidade de novas investigações, pois poucos microrganismos possuem a capacidade de metabolizar a xilose, presente nos hidrolisados, e produzir metabólitos com capacidade surfactante. No futuro, devido aos avanços da engenharia genética, espera-se a produção de cepas (bactérias ou leveduras) com capacidade de metabolizar de forma eficiente os diferentes monossacarídeos presentes nos

hidrolisados, tendo assim maior aproveitamento da biomassa lignocelulósica e contribuindo para o manejo da agroindústria desperdício.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- AHMAD, N.; ZAKARIA, M. R. Oligosaccharide from hemicelulose. In: HIDAYAH ARIFFIN, SAPUAN, S. M.; ALI HASSAN, M. **Lignocellulose for Future Bioeconomy**. p.135-152, 2019, Amsterdam, Netherlands: Elsevier Inc.
- AHUJA, V.; MACHO, M.; EWE, D.; SINGH, M.; SAHA, S.; SAURAV, K. Biological and pharmacological potential of xylitol: a molecular insight of unique metabolism. **Foods**. India, v.9, n.11, p.1592, Nov.2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods9111592>.
- AKBARI, S.; ABDURAHMAN, N. H.; YUNUS, R. M.; FAYAZ, R.; ALARA, O. R. Biosurfactants - a new frontier for social and environmental safety: a mini review. **Biotechnology Research and Innovation**. Pahang, v.2, n.1, p.81-90. Jan./Dec.2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biori.2018.09.001>.
- AMANI, H.; KARIMINEZHAD, H. Study on emulsification of crude oil in water using emulsan biosurfactant for pipeline transportation. **Petroleum Science and Technology**. Babol, v.34, n. 3, p.216-222. Mar.2016. DOI: <https://doi.org/10.1080/10916466.2015.1118500>.
- AMARAL, P. F. F.; SILVA, J. M.; LEHOCKY, M.; BARROS-TIMMONS, A. M. V.; COELHO, M. A. Z.; MARRUCHO, I. M.; COUTINHO, J. A. P. Production and characterization of a bioemulsifier from *Yarrowia lipolytica*. **Process Biochemistry**. Rio de Janeiro, v.41, n.8, p.1894-1898. Aug.2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2006.03.029>.
- ARCHANA, S.; TOMAR, G. S.; SRINIKETHAN, G. Studies on production of biosurfactant from *Pseudomonas Aeruginosa* (MTCC7815) & its application in microbial enhanced oil recovery. **Research Journal of Chemical and Environmental Sciences**. Mangalore, v. 4[4S], p.84-91, 2016. ISSN 2321-1040. Disponível em: <http://aelsindia.com/rjcesconferenceproceeding/16.pdf>. Acessado em: 12 de Mar. 2019.
- ARUTCHELVI, J. I. Mannosylerythritol lipids: a review. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**. Chennai, v.35, n.12, p.1559-1570. Aug.2008. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10295-008-0460-4>.
- ASHISH; DEBNATH (DAS) M. Application of biosurfactant produced by an adaptive strain of *C. tropicalis* MTCC230 in microbial enhanced oil recovery (MEOR) and removal of motor oil from contaminated sand and water. **Journal of Petroleum Science and Engineering**. Varanasi, v.170, p.40-48. Nov.2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.petrol.2018.06.034>.
- ASK, M. The influence of HMF and furfural on redox-balance and energy-state of xylose-utilizing *Saccharomyces cerevisiae*. **Biotechnology for Biofuels**. v.6, n.22, p.1-13. Feb.2013. DOI: <https://doi.org/10.1186/1754-6834-6-22>.
- DÍAZ DE RIENZO, M. A. Sophorolipid biosurfactants: possible uses as antibacterial and antibiofilm agent. **New biotechnology**. Manchester, v.32, n.6, p.720–726. Dec.2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2015.02.009>.

CHEN, W. C.; JUANG, R. S.; WEI, Y. H. Applications of a lipopeptide biosurfactant, surfactin, produced by microorganisms. **Biochemical Engineering Journal**. Taipei, v.103, p.158-169. Nov.2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bej.2015.07.009>.

CHEN, H.; WANG, L. Sugar strategies for biomass biochemical conversion. In.: CHEN, H.; WANG, L. **Technologies for Biochemical Conversion of Biomass**. p.137-164, 2017. United Kingdom: Academic Press. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802417-1.00006-5>.

CHEN, C.; LIN, J.; WANG, W.; HUANG, H.; LI, S. Cost-effective production of surfactin from xylose-rich corncob hydrolysate using *Bacillus subtilis* BS-37. **Waste and Biomass Valorization**. v.10, p.41-347. Aug.2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12649-017-0052-5>.

CHENG, H.; WANG, B.; LV, J.; JIANG, M.; LIN, S.; DENG, Z. Xylitol production from xylose mother liquor: A novel strategy that combines the use of recombinant *Bacillus subtilis* and *Candida maltosa*. **Microbial Cell Factories**. Nanning, v.10, n.5, p.1-12. Feb.2011. DOI: <https://doi.org/10.1186/1475-2859-10-5>.

CIRIGLIANO, M.C.; CARMAN, G.M. Isolation of a bioemulsifier from *Candida lipolytica*. **Applied and Environmental Microbiology**. v.48, n.4, p.747-750. Oct.1984. DOI: <https://doi.org/10.1128/aem.48.4.747-750.1984>.

COOPER, D. G.; ZAJIC, J. E.; GERSON, D. F. Production of surface-active lipids by *Corynebacterium lepus*. **Applied and Environmental Microbiology**. v.37, n.1, p.4-10. Jan.1979. DOI: <https://doi.org/10.1128/aem.37.1.4-10.1979>.

CORTÉS-CAMARGO, S.; PÉREZ-RODRÍGUEZ, N.; OLIVEIRA, R. P. S.; HUERTA, B. E. B.; DOMÍNGUEZ, J. M. Production of biosurfactants from vine-trimming shoots using the halotolerant strain *Bacillus tequilensis* ZSB10. **Industrial Crops and Products**. Ourense, v. 79, p. 258-266. Feb. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.11.003>.

CHRISTOVA, N.; TULEVA, B.; KRIL, A.; GEORGIEVA, M.; KONSTANTINOV, S.; TERZIYSKI, I.; NIKOLOVA, B.; STOINEVA, I. Chemical structure and in vitro antitumor activity of rhamnolipids from *Pseudomonas aeruginosa* BN10. **Applied Biochemistry and Biotechnology**. Bulgaria. v.170, n.3, p.676-689. Jun.2013. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12010-013-0225-z>.

DOBLER, L.; CARVALHO, B. R.; ALVES, W. S.; NEVES, B. C.; FREIRE, D. M. G.; ALMEIDA, R. V. Enhanced rhamnolipid production by *Pseudomonas aeruginosa* overexpressing *estA* in a simple medium. **PLOS ONE**. Rio de Janeiro, v.12, n.8, e0183857. Aug.2017. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183857>.

DUVNJAK, Z.; COOPER, D. G.; KOSARIC, N. Production of surfactant by *Arthrobacter paraffineus* ATCC 19558. **Biotechnology and Bioengineering**. Ontario, v.24, n.1, p.165-175. Jan.1982. DOI: <https://doi.org/10.1002/bit.260240114>.

FAN, E. S.; LU, K. W.; WEN, R. C.; SHEN, C. R. Photosynthetic reduction of xylose to xylitol using Cyanobacteria. **Biotechnology Journal**. Hsinchu, v.15, n.6, e1900354. Jun.2020. DOI: <https://doi.org/10.1002/biot.201900354>.

- FARIA, N. T.; SANTOS, M. V.; FERNANDES, P.; FONSECA, L. L.; FONSECA, C.; FERREIRA, F. C. Production of glycolipid biosurfactants, mannosylerythritol lipids, from pentoses and D-glucose/D-xylose mixtures by *Pseudozyma* yeast strains. **Process Biochemistry**. Lisboa, v.49, n.11, p.1790-1799, Nov.2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2014.08.004>.
- FREIRE, A. A.; SIMONELLI, G.; ASSIS, D. J.; DRUZIAN, J. I.; LOBATO, A. K. C. L. Surfactin production using papaya peel aqueous extract as substrate and its application for iron adsorption. **Research, Society and Development**. Bahia, v.9, n.7, e437974077. May.2020. DOI: <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i7.4077>.
- HABA, E.; ESPUNY, M. J.; BUSQUETS, M.; MANRESA, A. Screening and production of rhamnolipids by *Pseudomonas aeruginosa* 47T2 NCIB 40044 from waste frying oils. **Journal of Applied Microbiology**. Barcelona, v.88, n.3, p.379-387. Mar.2000. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2000.00961.x>.
- HARAHAP, B. M. Degradation techniques of hemicellulose fraction from biomass feedstock for optimum xylose production: a review. **Journal Keteknik Pertanian Tropis dan Biosistem**. Padjadjaran, v.8, n.2, p.107-124. Aug.2020. DOI: <https://doi.org/10.21776/ub.jkptb.2020.008.02.01>.
- Hauser, G.; Karnovsky, M. L. Studies on the production of glycolipide by *Pseudomonas aeruginosa*. **Journal of Bacteriology**. Boston, v.68, n.6, p.645-654. May. 1954. DOI: <https://doi.org/10.1128/jb.68.6.645-654.1954>.
- HU, F.; LIU, Y.; LIN, J.; WANG, W.; LI, S. Efficient production of surfactin from xylose-rich corncob hydrolysate using genetically modified *Bacillus subtilis* 168. **Applied and Environmental Microbiology**. Nanjing, v.104, p.4017-4026. Mar.2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10528-9>.
- JAIN, R. M.; MODY, K.; JOSHI, N.; MISHRA, A.; JHA, B. Production and structural characterization of biosurfactant produced by an alkaliphilic bacterium, *Klebsiella* sp.: evaluation of different carbon sources. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. Gujarat, v.108, p.199-204. Aug. 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.03.002>.
- JI, X.; MA, H.; TIAN, Z.; LYU, G.; FANG, G.; CHENG, J.; SAEED, H. A. M. Production of xylose from diluted sulfuric acid hydrolysis of wheat straw. **BioResources**, v.12, n.4, p.7084-7095. 2017. Disponível em: [https://ojs.cnr.ncsu.edu/index.php/BioRes/article/view/BioRes\\_12\\_4\\_7084\\_Ji\\_Xylose\\_Diluted\\_Sulfuric\\_Acid/5490](https://ojs.cnr.ncsu.edu/index.php/BioRes/article/view/BioRes_12_4_7084_Ji_Xylose_Diluted_Sulfuric_Acid/5490).
- JOSHI-NAVARE, K.; SINGH, P. K.; PRABHUNE, A. A. New yeast isolate *Pichia caribbica* synthesizes xylolipid biosurfactant with enhanced functionality. **European Journal of Lipid Science and Technology**. Pune, v.116, n.8, p.1070-1079. Apr.2014. DOI: <https://doi.org/10.1002/ejlt.201300363>.

KÄPPELI, O.; WALTHER, P.; MUELLER, M.; FIECHTER, A. Structure of the cell surface of the yeast *Candida tropicalis* and its relation to hydrocarbon transport. **Archives of Microbiology**. Zürich, v.138, p.279-282. Aug. 1984. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00410890>.

KIM, S.-K.; JO, J.-H.; PARK, Y.-C.; JIN, Y.-S.; SEO, J.-H. Metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for production of spermidine under optimal culture conditions. **Enzyme and Microbial Technology**. Seoul, v.101, p.30-35. June.2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2017.03.008>.

KONISHI, M.; YOSHIDA, Y.; HORIUCHI, J. Efficient production of sophorolipids by *Starmerella bombicola* using a corncob hydrolysate medium. **Journal of Bioscience and Bioengineering**. Hokkaido, v.119, n.3, p.317-322. Mar.2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2014.08.007>.

KURTZMAN, C. P.; PRICE, N. P. J.; RAY, K. J.; KUO, T.-M. Production of sophorolipid biosurfactants by multiple species of the *Starmerella (Candida) bombicola* yeast clade. **FEMS Microbiology Letters**. v.311, n.2, p.140-146. Oct.2010. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2010.02082.x>.

LANG, S. Biological amphiphiles (microbial biosurfactants). **Current Opinion in Colloid and Interface Science**. Braunschweig, v.7, n.1-2, p.12–20. Mar.2002. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1359-0294\(02\)00007-9](https://doi.org/10.1016/S1359-0294(02)00007-9).

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**. Mackay, v.23, n.5, p.367-380. Nov.2002. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0961-9534\(02\)00066-1](https://doi.org/10.1016/S0961-9534(02)00066-1).

MACDONALD, C. R.; COOPER, D. G.; ZAJIC, J. E. Surface-active lipids from *Nocardia erythropolis* grown on hydrocarbons. **Applied and Environmental Microbiology**. v.41, n.1, p.117-123. Feb.1981. DOI: <https://doi.org/10.1128/aem.41.1.117-123.1981>.

MARCELINO, P. R. F.; SILVA, V. L.; PHILIPPINI, R. R.; ZUBEN, C. J. V.; CONTIERO, J.; SANTOS, J. C.; SILVA, S. S. Biosurfactants produced by *Scheffersomyces stipitis* cultured in sugarcane bagasse hydrolysate as new green larvicides for the control of *Aedes aegypti*, a vector of neglected tropical diseases. **PLOS ONE**. São Paulo, v.12, e0187125. Nov.2017. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0187125>.

MARCELINO, P. R. F. PERES, G. F. D.; TERÁN-HILARES, R.; PAGNOCCA, F. C.; ROSA, C. A.; LACERDA, T. M.; SANTOS, J. C.; SILVA, S. S. Biosurfactants production by yeasts using sugarcane bagasse hemicellulosic hydrolysate as new sustainable alternative for lignocellulosic biorefineries. **Industrial Crops and Products**. São Paulo, v.129, p.212-223. Mar.2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.12.001>.

MOLDES, A. B.; PARADELO, R.; RUBINOS, D.; DEVESA-REY, R.; CRUZ, J. M.; BARRAL, M. T. Ex situ treatment of hydrocarbon-contaminated soil using biosurfactants from *Lactobacillus pentosus*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Pontevedra, v.59, n.17, p.9443-9447. Sept.2011. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf201807r>.

MOLDES, A. B.; PARADELO, R.; VECINO, X.; CRUZ, J. M.; GUDIÑA, E.; RODRIGUES, L.; TEIXEIRA, J. A.; DOMÍNGUEZ, J. M.; BARRAL, M. T. Partial characterization of biosurfactant from *Lactobacillus pentosus* and comparison with sodium dodecyl sulphate for the bioremediation of hydrocarbon contaminated soil. **Biomed Research International**. Vigo-Pontevedra, v.2013, 961842, Apr.2013. DOI: <https://doi.org/10.1155/2013/961842>.

MOLDES, A. B.; TORRADO, A. M.; BARRAL, M. T.; DOMÍNGUEZ, J. M. Evaluation of biosurfactant production from various agricultural residues by *Lactobacillus pentosus*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Ourense, v. 55, n. 11, p. 4481-4486. May.2007. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf063075g>.

MULLIGAN, C. N. Environmental applications for biosurfactants. **Environmental Pollution**. Quebec, v.133, n.2, p.183–98. Jan.2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2004.06.009>.

MUSSATTO, S.; TEIXEIRA, J. Lignocellulose as raw material in fermentation processes. In: MÉNDELEZ-VILAS, A. **Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology**. 2010. Formatex Research Center.

MUSSATTO, S. I.; DRAGONE, G.; ROBERTO, I. C. Influence of the toxic compounds present in brewer's spent grain hemicellulosic hydrolysate on xylose-to-xylitol bioconversion by *Candida guilliermondii*. **Process Biochemistry**. v.40, n.12, p.3801-3806. Dec.2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.06.024>.

NGUYEN, T. T.; YOUSSEF, N. H.; MCLNERNEY, M. J.; SABATINE, D. A. Rhamnolipid biosurfactant mixtures for environmental remediation. **Water Research**. Norman, v.42, n.6-7, p.1735-1743. Mar.2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.10.038>.

NOGUEIRA FELIX, A. K.; MARTINS, J. J. L.; ALMEIDA, J. G. L.; GIRO, M. E. A.; CAVALCANTE, K. F.; MELO, V. M. M.; PESSOA, O. D. L.; ROCHA, V. P.; GONÇALVES, L. R. B.; AGUIAR, R. S. S. Purification and characterization of a biosurfactant produced by *Bacillus subtilis* in cashew apple juice and its application in the remediation of oil-contaminated soil. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. Ceará, v. 175, p. 256-263. Mar.2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.11.062>.

NURFARAHIN, A. H.; MOHAMED, M. S.; PHANG, L. Y. Culture medium development for microbial-derived surfactants production-an overview. **Molecules**. Selangor, v.23, n.5, p.1-26. May.2018. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules23051049>.

NWAGUMA, I. V.; CHIKERE, C. B.; OKPOKWASILI, G. C. Isolation, characterization, and application of biosurfactant by *Klebsiella pneumoniae* strain IVN51 isolated from hydrocarbon-polluted soil in Ogoniland, Nigeria. **Bioresources and Bioprocessing**. Rivers State, v.3, n.40, p.1-13, Sept.2016. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40643-016-0118-4>.

OSIRO, K. O.; BRINK, D. P.; BORGSTRÖM, C.; WASSERSTROM, L.; CARLQUIST, M.; GORWA-GRAUSLUND, M. F. Assessing the effect of D-xylose on the sugar signaling pathways of *Saccharomyces cerevisiae* in strains engineered for xylose transport and assimilation. **FEMS Yeast Research**. Naturvetarvägen, v.18, n.1, p.1-36. Feb.2018. DOI: <https://doi.org/10.1093/femsyr/fox096>.

PANJIAR, N. Valorization of xylose-rich hydrolysate from rice straw, an agroresidue, through biosurfactant production by the soil bacterium *Serratia nematodiphila*. **Science of the Total Environment**. Bengaluru, v.729, 138933. Aug.2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138933>.

PENG, F.; LIU, Z.; WANG, L.; SHAO, Z. An oil-degrading bacterium: *Rhodococcus erythropolis* strain 3C-9 and its biosurfactants. **Journal of Applied Microbiology**. Fujian, v.102, n. 6, p.1603-1611. Jun.2007. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2006.03267.x>.

PORTILLA-RIVERA, O. M.; MOLDES, A. B.; TORRADO, A. M.; DOMÍNGUEZ, J. M. Lactic acid and biosurfactants production from hydrolyzed distilled grape marc. *Process Biochemistry*. Ourense, v.42, n.6, p.1010-1020. June.2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2007.03.011>.

PORTILLA-RIVERA, O.; TORRADO, A.; DOMÍNGUEZ, J. M.; MOLDES, A. B. Stability and emulsifying capacity of biosurfactants obtained from lignocellulosic sources using *Lactobacillus pentosus*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Ourense, v.56, n.17, p.8074-8080. Sept.2008. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf801428x>.

PORTILLA-RIVERA, O. M.; TORRADO-AGRASAR, A.; CARBALLO, J.; DOMÍNGUEZ, J. M.; MOLDES, A. B. Development of a factorial design to study the effect of the major hemicellulosic sugars on the production of surface-active compounds by *L. pentosus*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Ourense, v.57, n.19, p.9057-9062. Sept.2009. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf9014872>.

RAHIMI, K.; LOTFABAD, T. B.; JABEEN, F.; GANJI, S. M. Cytotoxic effects of mono-and di-rhamnolipids from *Pseudomonas aeruginosa* MR01 on MCF-7 human breast cancer cells. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. v.181, p.943–952. Sept.2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.06.058>.

RAN, H.; ZHANG, J.; GAO, Q.; LIN, Z.; BAO, J. Analysis of biodegradation performance of furfural and 5- hydroxymethylfurfural by *Amorphotheca resiniae* ZN1. **Biotechnology for Biofuels**. Shanghai, v.7, n.51, p.1-12. Apr.2014. DOI: <https://doi.org/10.1186/1754-6834-7-51>.

REIS, C. B. L.; MORANDINI, L. M. B.; BEVILACQUA, C. B.; BUBLITZ, F.; UGALDE, G.; MAZUTTI, M. A.; JACQUES, R. J. S. First report of the production of a potent biosurfactant with  $\alpha,\beta$ -trehalose by *Fusarium fujikuroi* under optimized conditions of submerged fermentation. **Brazilian Journal of Microbiology**. v.49, (Suppl. 1), p.185-192. Nov.2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2018.04.004>.

RODRIGUES, C.; WOICIECHOWSKI, A. L.; LETTI, L. A. J.; KARP, S. G.; GOELZER, F. D.; SOBRAL, K. C. A.; COAL, J. D.; CAMPIONI, T. S.; MACENO, M. A. C.; SOCCOL, C. R. Materiais lignocelulósicos como matéria-prima para a obtenção de biomoléculas de valor comercial. In: RESENDE, R. R. **Biociencia Aplicada à Agro&Indústria**. v.4, p.283-314. 2017. São Paulo: Blucher. DOI: <https://doi.org/10.5151/9788521211150-08>.

ROBERTO, I. C.; LACIS, L. S.; BARBOSA, M. F. S.; MANCILHA, I. M. Utilization of sugar cane bagasse hemicellulosic hydrolysate by *Pichia stipitis* for the production of ethanol. **Process Biochemistry**. São Paulo, v.26, n.1, p.15-21. Feb.1991. DOI: [https://doi.org/10.1016/0032-9592\(91\)80003-8](https://doi.org/10.1016/0032-9592(91)80003-8).

RODRUSSAMEE, N.; SATTAYAWAT, P.; YAMADA, M. Highly efficient conversion of xylose to ethanol without glucose repression by newly isolated thermotolerant *Spathaspora passalidarum* CMUWF1-2. **BMC Microbiology**. Chiang Mai, v.18, n.73, p.1–11. July.2018 DOI: <https://doi.org/10.1186/s12866-018-1218-4>.

RUSANEN, A.; LAPPALAINEN, K.; KÄRKKÄINEN, J.; TUUTTILA, T.; MIKOLA, M.; LASSI, U. Selective hemicellulose hydrolysis of *Scots pine* sawdust. **Biomass Conversion and Biorefinery**. Oulu, v.9, n.2. p.283-291. Dec.2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13399-018-0357-z>.

SAMAD, A.; ZHANG, J.; CHEN, D.; LIANG, Y. Sophorolipid production from biomass hydrolysates. **Applied Biochemistry and Biotechnology**. Carbondale, v.175, p.2246-2257. Feb.2015. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12010-014-1425-x>.

SANTA ANNA, L. M.; SEBASTIAN, G. V.; MENEZES, E. P.; ALVES, T. L. M.; SANTOS, A. S.; PEREIRA JR, N.; FREIRE, D. M. G. Production of biosurfactants from *Pseudomonas aeruginosa* PA1 isolated in oil environments. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**. Rio de Janeiro, v.19, n.2, p.159-166. Apr.2002. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0104-66322002000200011>.

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 Sciences**. Pernambuco, v.17, n.3, p.1–31. Mar.2016. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms17030401>.

SHABTAI, Y. Production of exopolysaccharides by *Acinetobacter* strains in a controlled fed-batch fermentation process using soap stock oil (SSO) as carbon source. **International Journal of Biological Macromolecules**. Tel-Aviv, v.12, n.2, p.145-152. Apr.1990. DOI: [https://doi.org/10.1016/0141-8130\(90\)90066-J](https://doi.org/10.1016/0141-8130(90)90066-J).

SHARMA, D. **Biosurfactants in Food**. Switzerland: Springer. 2016.

SILVA, J. P. A.; MUSSATTO, S. I.; ROBERTO, I. C. The influence of initial xylose concentration, agitation, and aeration on ethanol production by *Pichia stipitis* from rice straw hemicellulosic hydrolysate. **Applied Biochemistry and Biotechnology**. São Paulo, v.162, p.1306-1315. Nov.2010. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12010-009-8867-6>.

TAMBURINI, E.; COSTA, S.; MARCHETTI, M. G.; PEDRINI, P. Optimized production of xylitol from xylose using a hyper-acidophilic *Candida tropicalis*. **Biomolecules**. Ferrara, v.5, n.3, p.1979-1989. Aug.2015. DOI: <https://doi.org/10.3390/biom5031979>.

TIAN, Z.; Chen, J.; Ji, X.; Wang, Q.; Yang, G.; Fatehi, P. Dilute sulfuric acid hydrolysis of *Pennisetum* (sp.) Hemicellulose. **BioResources**. Guangxi, v.12, n.2, p.2609-2617. 2017.

Disponível em: <https://bioresources.cnr.ncsu.edu/resources/dilute-sulfuric-acid-hydrolysis-of-pennisetum-sp-hemicellulose/>.

TURNER, T.L.; ZHANG, G.-C.; KIM, S. R.; SUBRAMANIAM, V.; STEFFEN, D.; SKORY, C. D.; JANG, J. Y.; YU, B. J.; JIN, Y.-S. Lactic acid production from xylose by engineered *Saccharomyces cerevisiae* without PDC or ADH deletion. **Applied Microbiology and Biotechnology**. Bevier Hall, v.99, n.19, p.8023-8033. June.2015. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00253-015-6701-3>.

VIEIRA-NETA, M. R. A.; AZEVEDO, M. A.; DELFORNO, T. P.; DUARTE, I. C. S. Xylose a carbon source for the production of biosurfactant: Mini review. **Research, Society and Development**. v.10, n.6, e17810615573, May.2021. DOI: <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i6.15573>.

VIGNESHWARAN, C.; VASANTHARAJ, M. J. K.; SIVASUBRAMANIAN, V. A. Review on biosurfactants and its environmental applications. **IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology**. Kerala, v.10, n.8, p.152-160. Aug.2016. ISSN 2319-2399. Disponível em: <http://iosrjournals.org/iosr-jestft/papers/vol10-issue8/Version-2/S100802152160.pdf>.

VIJAYAKUMA, S.; SARAVANAN, V. Biosurfactants-types, sources and applications. **Research Journal of Microbiology**. Tamilnadu, v.10, n.5, p.181-192. 2015. DOI: <https://doi.org/10.3923/jm.2015.181.192>.

VILELA, L. F.; ARAUJO, V. P. G.; PAREDES, R. S.; BON, E. P. S.; TORRES, F. A. G.; NEVES, B. C.; ELEUTHERIO, E. C. A. Enhanced xylose fermentation and ethanol production by engineered *Saccharomyces cerevisiae* strain. **AMB Express**. Rio de Janeiro, v.5, n.16, p.1-7. Feb.2015. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13568-015-0102-y>.

WHANG, L.-M.; LIU, P.-W.; MA, C.-C.; CHENG, S.-S. Application of biosurfactants, rhamnolipid, and surfactin, for enhanced biodegradation of diesel-contaminated water and soil. **Journal of Hazardous Materials**. Tainan, v.151, n.1, p.155-163. Feb.2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.05.063>.

WILLENBACHER, J.; YEREMCHUK, W.; MOHR, T.; SYLDATK, C.; HAUSMANN, R. Enhancement of Surfactin yield by improving the medium composition and fermentation process. **AMB Express**. Karlsruhe, v.5, n.57, p.1-9. Aug.2015. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13568-015-0145-0>.

WILLUMSEN, P. A.; KARLSON, U. Screening of bacteria, isolated from PAH-contaminated soils, for production of biosurfactants and bioemulsifiers. **Biodegradation**. v.7, p.415-423. Sept.1996. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00056425>.

ZHANG, D.; ONG, Y. L.; LI, Z.; WU, J. C. Biological detoxification of furfural and 5-hydroxyl methyl furfural in hydrolysate of oil palm empty fruit bunch by *Enterobacter* sp. FDS8. **Biochemical Engineering Journal**. Singapore, v.72, p.77-82. Mar.2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bej.2013.01.003>.

ZHANG, G.; FRENCH, W. T.; HERNANDEZ, R.; ALLEY, E.; PARASCHIVESCU, M. Effects of furfural and acetic acid on growth and lipid production from glucose and xylose by *Rhodotorula glutinis*. **Biomass and Bioenergy**. Mississippi, v.35, n.1, p.734-740. Jan.2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2010.10.009>.

# CAPÍTULO 3

## Produção e caracterização de biossurfactante a partir de levedura oleaginosa utilizando hidrolisado de bagaço de malte como substrato

### RESUMO

A produção de biossurfactante utilizando hidrolisado de bagaço de malte (BM) como fonte de carbono foi avaliada neste trabalho empregando a levedura *Rhodotorula mucilaginosa* LBP5. O BM foi submetido a hidrólise ácida (120 °C por 30 min) para liberação de açúcares, que foram quantificados por HPLC confirmando a presença de arabinose (10 g/L), xilose (25 g/L), glicose (10 g/L) e celobiose (1,4 g/L). A concentração dos subprodutos (ácido acético, furfural e hidroximetilfurfural) foi inferior a 1,5 g/L. A produção de biossurfactante foi realizada conforme um planejamento fatorial 2<sup>4</sup> em diferentes condições de temperatura, inóculo, concentração de BM e pH. A melhor condição de produção de biossurfactante foi temperatura de 31 °C, pH 5,5, inóculo 4% (v/v) e 16,1% (m/v) de BM, tendo como resposta um índice de emulsificação tensão superficial. Estabelecida a melhor condição de produção, o biossurfactante produzido pela *R. mucilaginosa* LBP5 apresentou propriedades emulsificantes (65%), redução da TS para 40,7 mN/m e estabilidade frente a condições extremas de temperatura (40 – 80 °C), pH (4- 10) e NaCl (2 - 8%). O biossurfactante apresentou natureza aniônica e seus grupos funcionais foram identificados via FT-IR indicando que possivelmente o biossurfactante é do tipo glicolipídios com uma CMC de 1,5 g/L. Concluímos que o BM foi considerado uma fonte de carbono promissora para a produção de biossurfactante de baixo custo pela *R. mucilaginosa* LBP5.

**Palavras-chave:** Lignocelulósico. Resíduo de Cerveja. Leveduras. Surfactantes.

**ABSTRACT**

The production of biosurfactant using malt bagasse hydrolyzate (BM) as a carbon source was evaluated in this work using the yeast *Rhodotorula mucilaginosa* LBP5. BM was subjected to acid hydrolysis (120 °C for 30 min) to release sugars, which were quantified by HPLC confirming the presence of arabinose (10 g/L), xylose (25 g/L), glucose (10 g/L) and cellobiose (1.4 g/L). The concentration of by-products (acetic acid, furfural and hydroxymethylfurfural) was less than 1.5 g/L. Biosurfactant production was carried out according to a 2<sup>4</sup> factorial design under different conditions of temperature, inoculum, BM concentration and pH. The best condition for biosurfactant production was temperature of 31 °C, pH 5.5, inoculum 4% (v/v) and 16.1% (m/v) of BM, with a surface tension emulsification index as a response. Once the best production condition was established, the biosurfactant produced by *R. mucilaginosa* LBP5 showed emulsifying properties (65%), reduced TS to 40.7 mN/m and stability under extreme conditions of temperature (40 – 80 °C), pH (4 - 10) and NaCl (2 - 8%). The biosurfactant was anionic in nature and its functional groups were identified via FT-IR indicating that the biosurfactant is possibly of the glycolipid type with a CMC of 1.5 g/L. We conclude that BM was considered a promising carbon source for the production of low cost biosurfactant by *R. mucilaginosa* LBP5.

**Keywords:** Lignocellulosic. Beer Residue. Yeasts. Surfactants.

## 1. INTRODUÇÃO

O bagaço de malte (BM) é uma biomassa lignocelulósica residual produzida no final do processo de maltagem da cevada (KUNZE, 2004), representando cerca de 85% do total de resíduos de cerveja gerados durante a fermentação. No Brasil, são gerados 14 bilhões de litros de cerveja anualmente (BEER SECTOR IN BRAZIL, 2020), e a cada 100 L de cerveja são produzidos aproximadamente 20 kg de BM (LUFT *et al.*, 2019). O BM é constituído principalmente por cascas de cevada, partes do pericarpo e sementes, e é gerado com um teor de umidade de 80%, tornando-o muito suscetível à deterioração e inviabilizando seu armazenamento (LYNCH *et al.*, 2016; CHETRARIU e DABIJA, 2020).

O principal destino do BM é alimentação animal. Porém a oferta supera a demanda, e esse fator motiva a busca por novas alternativas de utilização do BM, visto que esse resíduo é gerado em grande quantidade ao longo do ano. Diferentes pesquisas estudam várias formas de aproveitamento do BM bem como incorporá-lo na dieta humana (ÖZTÜRK *et al.*, 2002), fabricação de tijolos (RUSS *et al.*, 2005), produção de biocombustíveis (MUSSATTO *et al.*, 2010; SZAJA *et al.*, 2020), xilitol (MUSSATTO e ROBERTO, 2005), enzimas e ácidos ferúlico ou *p*-cumárico (MOREIRA *et al.*, 2012; SOUZA *et al.*, 2012), além de biocompósitos (HEJNA *et al.*, 2015). No entanto, não há registros na literatura sobre o uso de BM na produção de biossurfactante.

Os principais componentes do BM são a celulose, a hemicelulose e a lignina. O BM é rico em proteínas, fibras e em uma proporção menor de lipídios e cinzas (LYNCH *et al.*, 2016; TORRES-MAYANGA *et al.*, 2019; CHETRARIU e DABIJA, 2020). Os polissacarídeos presentes no BM estão polimerizados na estrutura da celulose e hemicelulose (SHRESTHA *et al.*, 2020).

A celulose é composta por monômeros de glicose, sendo suas as fibras de celulose estão entrelaçadas por hemicelulose, que normalmente compreende diferentes açúcares hexose (D-glicose, D-manose, D-galactose, L-fucose, L-galactose, L-ramnose), pentoses (D- xilose e L-arabinose) e ácido glucurônico (LACA *et al.*, 2019; SHRESTHA *et al.*, 2020).

Tratamentos químicos ou enzimáticos podem ser realizados para converter a hemicelulose em açúcares fermentáveis (PLAZA *et al.*, 2017; LUFT *et al.*, 2019; SHRESTHA *et al.*, 2020), pois este polímero tem uma estrutura amorfa e pode ser facilmente solubilizado (LACA *et al.*, 2019).

A hidrólise de biomassas lignocelulósicas pode resultar na liberação de compostos (furfural, hidroximetilfurfural (HMF) e ácido acético) que são considerados tóxicos ao metabolismo de leveduras. No entanto, uma série de estudos relatados na literatura indicam as condições operacionais ideais para que durante o tratamento químico, esses compostos mesmos sendo liberados, mantenham baixa concentração e não afetam o metabolismo dos microrganismos durante processos fermentativos (MUSSATTO *et al.*, 2005; MARCELINO *et al.*, 2019). Há relatos na literatura de que algumas espécies de leveduras conseguem metabolizar esses compostos mesmo em elevadas concentrações (VAJZOVIC *et al.*, 2012).

Alguns estudos têm focado na conversão de açúcares hemicelulósicos do BM em etanol e xilitol (MUSSATTO e ROBERTO 2004; HASSAN *et al.*, 2020). Porém na literatura não há relatos do uso de hidrolisados hemicelulósicos oriundos do BM para produção de biossurfactantes.

Biossurfactantes ou surfactantes biológicos são metabólitos de origem microbiana com natureza anfifílica que consistem em uma porção hidrofóbica e uma hidrofílica. Eles têm propriedades importantes, como redução da tensão superficial (TS), tensão interfacial (TI) e emulsificação entre fluidos com diferentes graus de polaridade. Os biossurfactantes possuem uma grande diversidade química e estrutural e são classificadas de acordo com sua origem bioquímica, tais como: glicolipídios, lipopeptídios, surfactantes poliméricos e ácidos graxos (SANTOS *et al.*, 2016; FARIQ e YASMIN, 2018; MARCELINO *et al.*, 2019).

Biossurfactantes podem ser estáveis em condições extremas como: elevada temperatura, salinidade e pH. Outra propriedade importante dos biossurfactantes é a baixa toxicidade e biodegradabilidade no meio ambiente (SANTOS *et al.*, 2016) e, devido a essas características, a indústria tem grande interesse nos biossurfactantes como possíveis substitutos para surfactantes sintéticos derivados do petróleo, que podem ser tóxicos e de difícil de degradação, poluindo assim o meio ambiente.

Os biossurfactantes podem ser sintetizados por bactérias, fungos e leveduras a partir de diferentes tipos de substratos de baixo custo provenientes das agroindústrias. Vários substratos agroindustriais já foram explorados para a produção de biossurfactantes e têm mostrado excelentes resultados (BANAT *et al.*, 2014; SANTOS *et al.*, 2016; MARCELINO *et al.*, 2017; MOHANTY *et al.*, 2021). A intensa busca por substratos renováveis para a produção de biossurfactantes é realizada visando reduzir o custo de produção em 50%, visto que esses surfactantes são ecologicamente viáveis (JOSHI e DESAI, 2010; MOHANTY *et al.*, 2021).

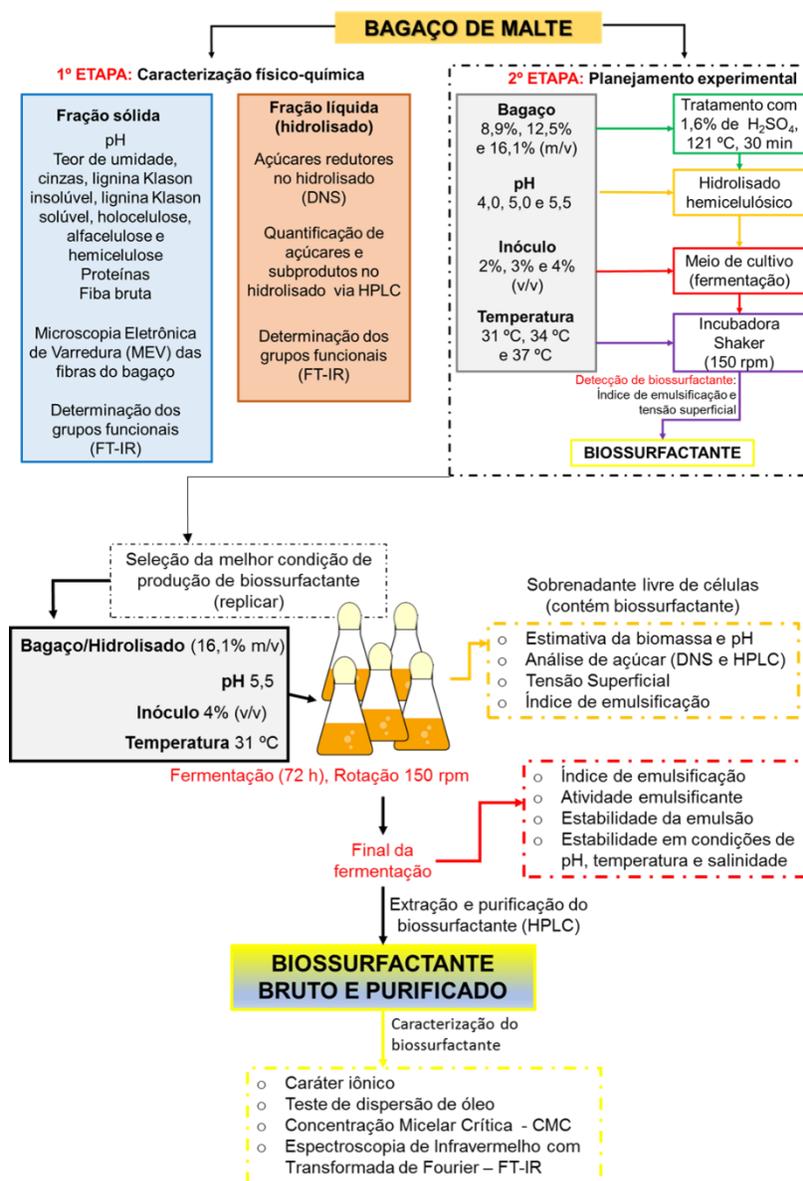
As leveduras têm sido amplamente estudadas para a produção de surfactantes biológicos, pois esses microrganismos têm a capacidade de usar diferentes substratos como fonte de carbono: hidrocarbonetos, óleos e carboidratos (CHANDRAN e DAS, 2011; MAX, 2012; RIBEIRO *et al.*, 2012a; JOSHI-NAVARE, 2014; ELSHAFIE *et al.*, 2015). Espécies do gênero *Candida* e *Pseudozyma* são amplamente utilizadas para produzir soforolipídios e lipídios de manosileritritol (MELs) (SANTOS *et al.*, 2016).

Leveduras oleaginosas pertencentes ao gênero *Rhodotorula* também produzem soforolipídios (RIBEIRO *et al.*, 2012a; SEN *et al.*, 2017), glicoproteínas (KAWAHARA *et al.*, 2013), ésteres de polioliol e ácidos graxos (WANG *et al.*, 2019) e bioemulsificantes (JOHNSON *et al.*, 1992). Considerando que BM ainda não foi estudado como substrato para a produção de biossurfactantes, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial dessa biomassa e a otimização da produção de biossurfactante por levedura oleaginosa, bem como realizar a caracterização do biossurfactante e estudar suas propriedades físico-químicas.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi realizado em três etapas: 1ª Etapa – caracterização físico-química do BM; 2ª Etapa – execução do planejamento experimental para obter a melhor condição de produção de biossurfactante; 3ª Etapa – produção de biossurfactante em condição otimizada. A Figura 1 mostra o fluxograma do estudo realizado para produção de biossurfactante por levedura oleaginosa, tendo como fonte de carbono hidrolisados hemicelulósicos do BM.

**Figura 1** - Fluxograma simplificado da metodologia executada para produção de biossurfactante por levedura oleaginosa.



## **2.1 Bagaço de Malte: Composição e Caracterização Físico-Química**

O BM foi fornecido por uma cervejaria localizada em Campinas, São Paulo, Brasil. As amostras foram secas em estufa a 105 °C por 24 h (BARROZO *et al.*, 2019) para evitar sua deterioração. Em seguida, foram triturados em moinho de facas Willey MA-340 para obtenção de partículas de 0,5 mm. As amostras foram armazenadas em sacos plásticos herméticos em temperatura ambiente até o momento do uso.

A composição do BM foi determinada a partir das seguintes análises: teor de cinzas (TAPPI 2002), teor de lignina Klason insolúvel e solúvel (NREL, 2008), teor de holocelulose (MORAIS *et al.*, 2010), teor de alfacelulose e teor de hemicelulose (TAPPI, 1999), proteínas (IAL, 2008), teor de umidade (IAL, 2008) e açúcar redutor (AR) (MILLER, 1959).

Para determinar a acidez, em um frasco Erlenmeyer de 250 mL contendo 100 mL de água destilada, foram adicionados 4,0 g de BM moído. A solução heterogênea foi agitada por 30 min e deixada em repouso por 30 min e com auxílio de um pHmetro (Modelo LUCA-210) previamente calibrado o pH do sobrenadante foi mensurado. Todas as análises foram realizadas em duplicata.

## **2.2 Microscopia Eletrônica de Varredura - MEV**

A morfologia das fibras da fração sólida do BM, antes e após os tratamentos de clareamento e hidrólise ácida, foi analisada em microscópio eletrônico de varredura (modelo TM3000). As amostras foram acondicionadas em porta-amostras de alumínio revestido com fibra de carbono e analisadas em diferentes aumentos (250X, 500X e 600X). Microanálise e mapeamento elementar por meio do Espectrômetro de Energia Dispersiva (EDS) (HASSAN *et al.*, 2020) foi realizada para verificar a presença minerais no BM.

## **2.3 Obtenção dos Hidrolisados Hemicelulósicos do Bagaço de Malte**

Diferentes proporções de sólidos BM 8,9%, 12,5% e 16,1% (m/v) foram tratadas com ácido sulfúrico 1,6% (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) a 120 °C por 30 min (MUSSATTO e ROBERTO, 2005). Após a hidrólise, a fração líquida foi recuperada por centrifugação a 7500 rpm por 10 min e o pH do sobrenadante foi medido usando um pHmetro (Modelo LUCA-210).

## **2.4 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR): Bagaço de Malte**

A técnica de FT-IR foi realizada em amostras de BM moído (*in natura*) e nos hidrolisados para determinação dos grupos funcionais presentes na celulose, hemicelulose e lignina. Os espectros de infravermelho foram registrados entre 4000 e 400  $\text{cm}^{-1}$  com resolução de 8  $\text{cm}^{-1}$ , utilizando o espectrofotômetro Cary 630, equipado com acessório de refletância total atenuada (ATR) e cristal de diamante. O espectro médio de cada amostra foi obtido após 256 varreduras acumuladas para melhorar a relação sinal-ruído conforme banco de dados.

## **2.5 Composição Química dos Hidrolisados Hemicelulósicos**

Os hidrolisados foram analisados quanto à concentração de açúcares (glicose, xilose, celobiose e arabinose) e produtos de degradação (furfural e HMF) e ácido acético, usando cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) (Dionex Ultimate 3000, Termo Scientific, Sunnyvale, EUA), com módulo de bomba (LPG - 3400SD) e módulo injetor (WPS - 3000TSL) usando detector espectrofotométrico de matriz de diodos (DAD 3000), equipado com detector de índice de refração RI-101 (Shodex). As análises foram realizadas no seguinte *software*: Chromeleon 6.80. As amostras foram diluídas com água deionizada e injetadas no cromatógrafo nas seguintes condições: temperatura da coluna de 50 °C, 5 mmol de ácido sulfúrico, fase móvel com vazão de 0,6 mL/min e volume de injeção de 20  $\mu\text{L}$ . A concentração dos compostos foi calculada usando uma curva de calibração obtida a partir de soluções padrão (BONTURI *et al.*, 2017).

## **2.6 Design Experimental**

Um planejamento fatorial completo  $2^4$  com dois pontos centrais, totalizando 18 experimentos, foi realizado para analisar os principais efeitos e interações de quatro variáveis independentes sob a resposta na variável dependente emulsificação e redução da tensão superficial (TS). As variáveis e codificações estão descritas na Tabela 1. A análise estatística foi realizada por meio do *software* *Statística* 13 (TIBCO Software Inc, 2017, <http://statistica.io>).

**Tabela 1** - Variáveis e níveis analisados no design experimental para produção de biossurfactante pela levedura *Rhodotorula mucilaginosa* LBP5.

Variáveis	Código	-1	0	+1
Temperatura (°C)	X <sub>1</sub>	31	34	37
pH	X <sub>2</sub>	4,5	5,0	5,5
BM/hidrolisado (% m/v)	X <sub>3</sub>	8.9	12.5	16.1
Inóculo % (v/v)	X <sub>4</sub>	2,0	3,0	4,0

BM – Bagaço de malte

### **2.6.1 Microrganismo e Inóculo**

A levedura *R. mucilaginosa* LBP5 (KR136236) foi isolada de cladódio *Praecereus euchlorus* e identificada por sequenciamento de DNA usando a região ITS (CAMARGO *et al.* 2016). A linhagem foi mantida em tubo inclinado a 4 °C. Para o preparo do inóculo, a levedura foi semeada em ágar *Sabouraud* e incubada a 30 °C por 48 h. Utilizando uma alça calibrada de 10 µL da cultura, foi transferida para frascos contendo 100 mL do meio (g/L): 20 - NaNO<sub>3</sub>, 2,0 - KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 2,0 - MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 10 - extrato de levedura, 4,0 - glicose (KITAMOTO *et al.*, 1990). Os frascos foram incubados a 30 °C durante 48 h e foram agitados a 150 rpm e mantidos em aerobiose. Para padronizar o inóculo, a densidade óptica (610 nm) foi determinada até atingir 1,0 ABS, o que corresponde a 10<sup>7</sup> células totais/mL (MARCELINO *et al.*, 2019).

### **2.6.2 Condições de Cultivo para Produção de Biossurfactante**

A produção de biossurfactante foi realizada de acordo com o planejamento fatorial completo 2<sup>4</sup> (Tabela 1). Os ensaios foram realizados em frascos Erlenmeyer de 250 mL contendo 100 mL do hidrolisado hemicelulósico enriquecido com (g/L): 20 - NaNO<sub>3</sub>; 2,0 - KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 2,0 - MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 10 - extrato de levedura (Kitamoto *et al.*, 1990). O pH do meio foi ajustado para 4,5, 5,0 e 5,5 com 1M NaOH. Os frascos foram autoclavados a 120 °C por 15 min. Em seguida, 2%, 3% e 4% (v/v) do inóculo foram adicionados ao meio de reação e incubados em um agitador a 150 rpm por 120 h em diferentes temperaturas (31 °C, 34 °C e 37 °C). Ao final do processo de fermentação, o caldo de cultivo foi centrifugado a 7800 rpm durante 15 min para obter o sobrenadante livre de células. A partir do sobrenadante livre de células, o índice de emulsificação, TS e pH foram medidos.

### **2.6.3 Determinação das Respostas**

#### **2.6.3.1 Índice de Emulsificação (I.E%) e Tensão Superficial (TS)**

O I.E% foi medido de acordo com o método proposto por Cooper e Goldenberg (1987), que consiste em medir a relação óleo/sobrenadante. Em um tubo graduado contendo 2 mL do sobrenadante livre de células, foram adicionados 2 mL de óleo de soja (substrato hidrofóbico teste). Esta mistura foi agitada num agitador magnético durante 2 min. Após 24 h de repouso, o I.E% é expresso em porcentagem (Eq. 1). Para tanto, o cálculo foi realizado medindo-se a altura da camada de emulsão (cm) e dividindo pela altura total (cm), multiplicado por 100. As análises foram realizadas em duplicata.

$$I.E\% = \frac{He}{Ht} * 100 \quad \text{Eq. 1}$$

Obs: He - altura da camada de emulsão; Ht – altura total.

A TS do sobrenadante livre de células foi medido de acordo com o método do anel Du Nöuy, usando um tensiômetro de superfície (Kruss, Modelo K20). O tensiômetro foi calibrado com água destilada, sendo o anel flambado antes de cada medição. O anel foi introduzido em 15 mL do meio de cultura livre de células, aplicando-se uma força para cima até que o anel fosse removido do meio de cultura e a TS registrado. No total, foram feitas 10 medições para cada amostra.

### **2.7 Produção de Biossurfactante**

Dentre os 18 experimentos executados a partir do planejamento experimental (2<sup>4</sup>), a melhor condição de produção de biossurfactante pela levedura *R. mucilaginosa* LBP5 foi replicada, com finalidade de estudar o crescimento celular, variação do pH e TS. Também foi estudado a concentração micelar crítica (CMC), e as propriedades físicas do biossurfactante como emulsificação, estabilidade da emulsão, estabilidade frente a diferentes condições extremas de pH, temperatura e salinidade. O biossurfactante também foi testado, quanto sua capacidade de deslocamento de óleo e caráter iônico. Além disso, foi determinado os grupos funcionais do biossurfactante via técnica de FT-IR.

Os ensaios foram realizados em frascos Erlenmeyer de 1000 mL contendo 600 mL do hidrolisado hemicelulósico enriquecido com (g/L): 20 - NaNO<sub>3</sub>; 2,0 - KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 2,0 - MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 10 - extrato de levedura (Kitamoto *et al.*, 1990). O pH do meio foi ajustado 5,5 com 1M NaOH. Os frascos foram autoclavados a 120 °C por 15 min. Em seguida, 4% (v/v) do inóculo foi adicionado ao meio de reação e incubados em um agitador a 150 rpm por 72 h em a 31 °C.

### **2.7.1 Estimativa da Biomassa e pH**

As amostras para determinar biomassa e pH foram coletadas em diferentes intervalos de tempo (0 h – 72 h) de fermentação. Para quantificar o crescimento microbiano, foi usado a técnica de peso seco. Para tanto, amostras de 1 mL foram coletadas de forma estéril e centrifugadas (10.000 rpm por 20 min). O sobrenadante foi descartado e o precipitado (biomassa) foi seco por aquecimento em estufa de ar quente a 90 °C até atingir peso constante. O pH do sobrenadante livre de células foi mensurado com um pHmetro (Modelo LUCA-210).

### **2.7.2 Análise de Açúcar**

A concentração de açúcar no início (0 h) e ao final (72 h) do processo fermentativo foi determinada por HPLC (Dionex Ultimate 3000, Termo Scientific, Sunnyvale, EUA), conforme método descrito no item 2.5.

Açúcares redutores totais foram determinados durante diferentes intervalos de tempo usando o método DNS (MILLER, 1959). As amostras coletadas foram centrifugadas (7800 rpm por 10 min), o sobrenadante (0,5 mL) foi transferido para tubo de ensaio, em seguida, foram adicionados 0,5 mL de DNS. Os tubos foram aquecidos a 95 °C por 10 min e resfriados. Posteriormente, 4 mL de água destilada foi adicionada nos tubos e agitados em vortex. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 540 nm. Para a obtenção da concentração de açúcar nas amostras, previamente construiu-se uma curva padrão de glicose (4 g/L).

### **2.7.3 Propriedades Funcionais do Biossurfactante**

#### **2.7.3.1 Índice de Emulsificação (I.E%), Atividade Emulsificante (A.E) e Estabilidade da Emulsão (E.E) em Diferentes Substratos Hidrofóbicos**

O I.E%, A.E e E.E foram determinados a partir da medida entre a proporção de substratos hidrofóbicos (óleo de soja e querosene) e sobrenadante livre de células. Em um tubo adicionou-se 2 mL de óleo e 2 mL do sobrenadante. Em seguida, o tubo foi agitado vigorosamente em vortex por 2 min (COOPER e GOLDENBERG, 1987). O tubo foi levado ao espectrofotômetro para determinação da A.E, para tanto, a leitura foi realizada em comprimento de onda de 540 nm. A A.E é definida como a quantidade necessária para aumentar a absorvância em 1 unidade emulsificante (U.E) a 540 nm (MARCELINO *et al.*, 2019). Em seguida, o tubo foi deixado em repouso por 24 h. Depois, foi calculado o I.E% a partir da altura da camada da emulsão (cm) dividida pela altura total da coluna do líquido (cm), multiplicado por 100. A E.E foi avaliada através da repetição do cálculo do I.E% em diferentes tempos (24, 48, 72 e 96 h) para verificar se ocorreu perda da E.E do biossurfactante. Todos os testes foram realizados em duplicata e para o controle utilizou-se água e óleo.

#### **2.7.4 Estabilidade do Biossurfactante: Temperatura, pH e Salinidade**

Os estudos de estabilidade foram realizados submetendo o sobrenadante livre de células a diferentes condições de temperatura, pH e salinidade. A estabilidade do biossurfactante foi realizada conforme Ibrahim *et al.* (2013).

O sobrenadante livre de células foi obtido pela centrifugação, da amostra do caldo da fermentação, a 7800 rpm durante 15 min. Para testar a estabilidade à temperatura, o sobrenadante (6 mL) foi aquecido a temperaturas variando de 40 a 121 °C por 30 min e resfriado a temperatura ambiente. O efeito da salinidade foi verificado variando as concentrações de NaCl de 2 a 10% m/v do sobrenadante (6 mL). Para testar o efeito do pH, o pH do sobrenadante (6 mL) foi ajustado para diferentes valores 2 a 10 com soluções de 1M NaOH ou 1M HCl. O efeito dessas condições sobre o biossurfactante foram mensuradas a partir do I.E% obtido após 24 h em dois substratos hidrofóbicos (óleo de soja e querosene).

### **2.7.5 Extração do Biossurfactante**

O sobrenadante livre de células foi filtrado com membrana de 0,22 µm. Dois volumes de acetona a -15 °C foram adicionados à quatro volumes do sobrenadante filtrado e deixado em repouso por 24 h a 4 °C. O biossurfactante foi recuperado por precipitação após centrifugação por 10 min a 5000 rpm e seco sob uma corrente de ar quente, em estufa, com temperatura superior ao ponto de ebulição da acetona (56 °C), para que esta fosse removida (PRUTHI e CAMEOTRA, 2003), o biossurfactante bruto foi coletado como pó seco.

### **2.7.6 Determinação do Caráter Iônico**

A carga iônica do biossurfactante bruto foi determinada pela técnica de dupla difusão em ágar (MEYLHEUC *et al.*, 2001). Para tanto, foram feitas duas filas de poços em ágar de baixa dureza (agarose a 1%). Os poços de uma linha foram preenchidos com biossurfactante e os outros foram preenchidos com substâncias de cargas iônicas conhecidas. As substâncias usadas foram o composto catiônico brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB 20 mM) e o aniônico dodecil sulfato de sódio (SDS 20 mM). O aparecimento de linhas de precipitação entre os poços, é indicativo de caráter iônico do biossurfactante. O teste foi realizado em duplicata e monitorado durante um período de 48 h em temperatura ambiente.

### **2.7.7 Teste de Dispersão de Óleo**

O teste de dispersão de óleo é usado para medir o diâmetro da zona clara, que ocorre a após a adição de uma solução surfactante numa interface óleo água. Para este teste, foi adicionado 40 mL de água destilada em uma placa de Petri. Em seguida, adicionou-se 1 mL de óleo de motor usado sob a superfície da água, seguido da adição de 10 µL do biossurfactante bruto sobre a camada de óleo. Foi considerado como resultado positivo, quando o biossurfactante dispersou o óleo formando uma zona clara. O diâmetro da zona clara foi determinado após 30 s da adição do biossurfactante, o teste foi realizado em duplicata (IBRAHIM *et al.*, 2013).

### **2.7.8 Concentração Micelar Crítica (CMC)**

Para determinar a CMC diferentes concentrações do biossurfactante bruto (0.01– 3.0 g/L) em água ultrapura foram preparadas. Em seguida, a CMC do biossurfactante foi obtida medindo-se a TS em um tensiômetro K6 (Krüss GmbH, Germany), usando o método do anel

Du Nouy. A CMC foi determinada quando o aumento na concentração do biossurfactante não resultou na diminuição da TS, mantendo-se estável (RUFINO *et al.*, 2014). Os valores relatados são a média das duplicatas.

### **2.7.9 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier – FT-IR: Biossurfactante**

Para determinar a natureza química do biossurfactante bruto, foi empregada a técnica FT-IR, pois através desta técnica é possível identificar os grupos funcionais do biossurfactante. O FT-IR foi executado conforme descrito no item 2.4.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### **3.1 Composição Química do Bagaço de Malte**

O BM puro apresentou 80,9% de umidade, o que pode ocasionar sua deterioração e autofermentação. Para evitar esse problema, o BM foi seco até que a umidade fosse reduzida para 4,1%. O processo de secagem, permitiu que essa biomassa fosse armazenada a temperatura ambiente.

O pH da suspensão do BM ficou em torno de 6,0, semelhante ao relatado por Poerschmann *et al.* (2014), onde o pH da suspensão do BM era 6,9. No entanto, a faixa de pH de 6,0 está ligeiramente acima da faixa de pH 5,3 a 5,6 usada durante os processos de produção de cerveja (KUNZE, 2004). O aumento do pH possivelmente ocorre devido o BM não está mais sujeito às condições de hidrólise enzimática para degradação do amido e das proteínas presentes na cevada.

Os principais componentes do BM são apresentados na Tabela 2. Essa biomassa apresentou teor de proteínas de 6,42%, corroborando com os relatados na literatura, já que o teor de proteína nesta biomassa pode variar consideravelmente entre 4% a 36% (ONOFRE *et al.*, 2018; ÖZTÜRK *et al.*, 2012). Conforme Mussatto e Roberto (2005) as proteínas podem ser solubilizadas durante o processo de hidrólise, fornecendo uma boa fonte de nitrogênio para microrganismos durante o processo de fermentação.

O BM apresentou baixo teor de cinzas (4,23%), as quais são compostas principalmente por sílica (MUSSATTO e ROBERTO, 2006; TORRES-MAYANGA *et al.*, 2019). Já a quantidade de fibra foi de 20,2%, a qual pode incluir em sua composição polissacarídeos, oligossacarídeos, lignina e outras substâncias vegetais associadas (TACER-CABA *et al.*, 2015).

O teor de lignina (28,33%) do BM foi semelhante ao encontrado por Buffington (2014) e Mussatto e Roberto (2006), porém, o alto teor deste polímero pode influenciar na formação de compostos fenólicos que podem afetar o crescimento dos microrganismos durante o processo de fermentação (MUSSATTO e ROBERTO, 2006).

O alto teor de holocelulose (48,92%) no BM confirmou que esta biomassa é rica em carboidratos totais, pois a holocelulose engloba os valores de celulose e carboidratos. Os carboidratos são constituídos por pentoses que compreendem a hemicelulose (TAHERZADEH

e KARIMI, 2007). Portanto, o conteúdo de hemicelulose e da alfacelulose é sempre inferior ao da holocelulose (SANTOS *et al.*, 2015).

A partir do método DNS, verificou-se que a concentração de AR no BM moído foi 63 mg/g. Macheiner *et al.* (2003) mostraram que a concentração de AR usando o método DNS varia muito dependendo do tratamento químico aplicado à fibra com ácidos como: acético, HCl e NaOH. A variação de AR por grama de BM pode ser de 13,2 mg/g a 359 mg/g.

Normalmente, o BM apresenta uma composição variada de seus constituintes, pois a composição dessa biomassa depende da variedade da cevada, da época de colheita e das condições e processos tecnológicos utilizados na maltagem e moagem, bem como do tipo de suplementos adicionados durante o processo de maltagem (XIROS e CHRISTAKOPOULOS, 2012).

**Tabela 2** - Composição (%) do bagaço de malte em diferentes pesquisas.

Referências	Proteínas	Fibra bruta	Cinzas	Lignina insolúvel	Lignina solúvel	Holocelulose	Alfacelulose	Hemicelulose
<b>Presente estudo</b>	<b>6,4</b>	<b>20,2</b>	<b>4,2</b>	<b>28,3</b>	<b>2,1</b>	<b>48,9</b>	<b>21,7</b>	<b>26,6</b>
Onofre <i>et al.</i> (2018)	4,8	4,1	3,7	-	-	-	-	-
Mussatto e Roberto (2006)	15,2	-	4,6	22,9	4,8	-	-	28,4
Luft <i>et al.</i> (2019)	16,3	-	2,1	18,2	-	-	-	28,7
Santos <i>et al.</i> (2015)	-	-	-	30,4	-	45,8	20,0	25,7
Torres-Mayanga <i>et al.</i> (2019)	19,2	-	3,9	11,7	6,1	-	-	35,7
Öztürk <i>et al.</i> (2012)	36,3	49,9	2,5	14,6	-	-	-	19,2
Plaza <i>et al.</i> (2017)	15,1	-	3,5	14,1	4,9	-	-	22,9
Poerschmann <i>et al.</i> (2014)	21,5	-	4,5	19,1	-	-	-	26,5

- Não caracterizado

### **3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura - MEV**

As alterações morfológicas das fibras do BM após as etapas de branqueamento e tratamento com ácido diluído foram avaliadas através da MEV (Figura 2). As micrografias obtidas revelaram que as camadas superficiais do BM não tratado apresentam tecidos fibrosos, rígidos e altamente compactados, e a superfície das fibras é aparentemente irregular (Figura 2a). Esses dados estão de acordo com Mussatto e Roberto (2006), nos quais os

autores relataram que o BM é altamente fibroso, devido a elevada concentração de celulose, lignina e hemicelulose.

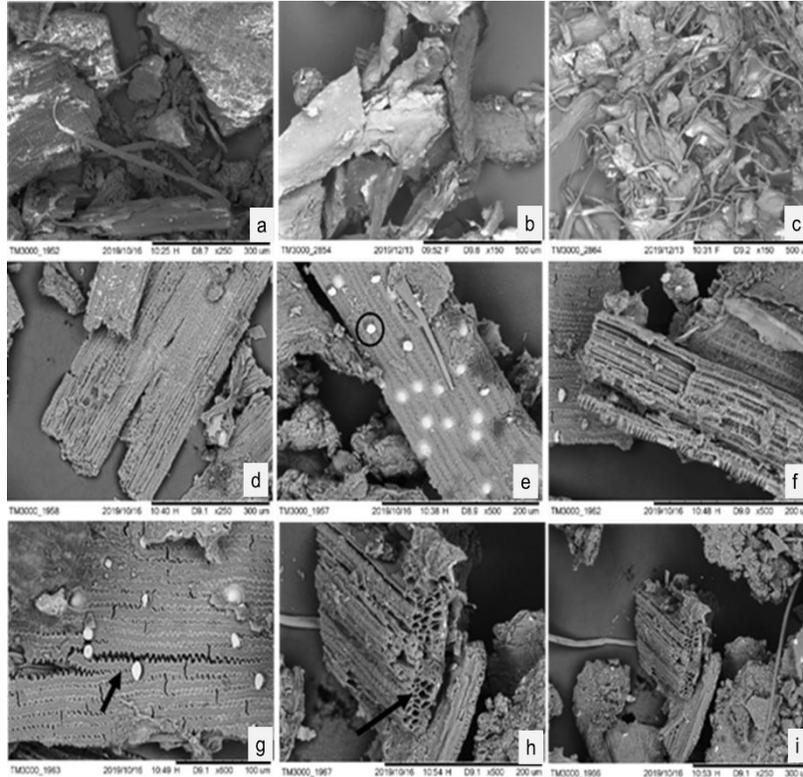
Após o tratamento de branqueamento do BM, constatou-se que a holocelulose apresentou uma superfície limpa e lisa, indicando que houve oxidação da lignina no ambiente ácido, principalmente oxidação por cloro, resultante da reação entre o clorito de sódio com o ácido acético quente (Figura 2b) (MORAIS *et al.*, 2010). A alfacelulose obtida a partir do branqueamento do BM, apresentou feixes de fibras separados (Figura 2c).

As micrografias revelaram que após o tratamento de diferentes amostras de BM (8,9%, 12,5% e 16,1% m/v) com ácido diluído a uma concentração de 1,6%, ocorreram alterações estruturais significativas em todas as amostras. Observamos que a camada mais externa das fibras foi eliminada, evidenciando a estrutura interna das fibras, comprovando que o tratamento ácido é eficaz na despolimerização do BM.

A modificação da estrutura natural das fibras e as rupturas que aparecem na epiderme mostram que houve despolimerização da hemicelulose (Figura 2d-i). Isso explica a alta concentração de xilose nos hidrolisados, que é o principal componente monossacarídeo da hemicelulose (RAVINDRAN *et al.*, 2018). No entanto, fica evidente que a estrutura da celulose permaneceu praticamente inalterada após ação do ácido (Figura 2d), pois este polímero é constituído principalmente por uma estrutura cristalina que para ser degradada necessita de condições ácidas mais severas ou do uso de enzimas específicas (MUSSATTO *et al.*, 2008).

Na Figura 2f-i, pode-se observar muitos canais regulares que compõem o sistema vascular da planta, ou seja, são responsáveis pela condução da seiva e dos nutrientes nas plantas. Além disso, o BM possui epiderme estriada (Figura 2g) e incrustações brilhantes aderidas a ele. Por meio da análise elementar (EDS), foi possível identificar que essas incrustações são silicatos (Figura 2e, g), que correspondem a 25% dos minerais presentes na cevada (KUNZE, 2004). Além disso, por meio da EDS foi identificado elevado teor de carbono (40,6%) e oxigênio (44,5%). A alta concentração desses elementos é devido o BM ser uma biomassa de origem orgânica, composta por fibras lignocelulósicas. Em baixa concentração aparece os minerais enxofre (3,0%) e sílica (11,9%). Biomassas de diferentes cereais geralmente apresentam em sua composição elementos orgânicos e minerais (MUSSATTO e ROBERTO, 2006; GUZMÁN *et al.*, 2015).

**Figura 2** - Micrografia do bagaço de malte obtida em microscópio eletrônico de varredura: bagaço de malte fresco (a); holocelulose (b) e  $\alpha$ -celulose após branqueamento (c) e após tratamento com ácido sulfúrico (1,6%) em diferentes concentrações do bagaço de malte (m/v): 16,1% (d, e), 8,9% (f, g) e 12,5% (h, i).



### **3.3 Espectroscopia Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR): Bagaço de Malte**

A partir da técnica de FT-IR foi elucidado os grupos funcionais químicos específicos presentes na celulose, hemicelulose e lignina do BM. O espectro de IR do BM moído (*in natura*) e hidrolisado está apresentado na Figura 3. A identificação dos grupos funcionais foi realizada a partir do valor da intensidade da banda de absorção. O resultado indicou que o tratamento ácido tem efeitos na remoção da hemicelulose e causou perturbação nas ligações correspondentes a celulose e lignina.

A região entre  $3500\text{ cm}^{-1}$  e  $3200\text{ cm}^{-1}$  indicou a estrutura cristalina da celulose, sendo que os picos  $3279\text{ cm}^{-1}$  e  $3269\text{ cm}^{-1}$  foram relacionados a vibração de alongamento OH da celulose. No entanto, foi possível observar o aumento da largura da linha da assimetria correspondente ao pico  $3269\text{ cm}^{-1}$  comprovando que houve perturbação na estrutura cristalina da celulose. A

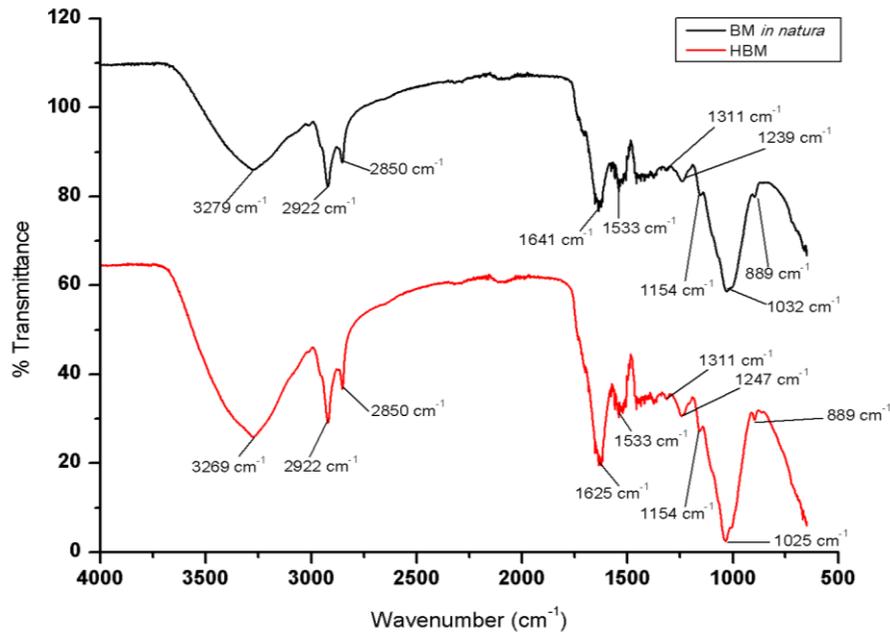
mudança na estrutura, indica fortes evidências da ruptura das ligações de hidrogênio intramoleculares na celulose (CAO e TAN, 2004; CHANDEL *et al.*, 2014).

O pico  $2922\text{ cm}^{-1}$  é devido ao alongamento assimétrico de  $\text{CH}_2$  e  $\text{CH}$ , característicos da celulose (CHANDEL *et al.*, 2014). Já o pico  $2850\text{ cm}^{-1}$  corresponde a vibração de alongamento C-H da lignina (CHANDEL *et al.*, 2014; XU *et al.*, 2103). Essa região em torno de  $2922\text{ cm}^{-1}$  e  $2850\text{ cm}^{-1}$ , expressos em ambos os espectros, mostram que essa região não é afetada pelo tratamento com ácido. Esse resultado sugere que o principal efeito da hidrólise com ácido diluído é a remoção da hemicelulose (CHANDEL *et al.*, 2014).

O pico  $1641\text{ cm}^{-1}$  e  $1625\text{ cm}^{-1}$  foram atribuídos a ligação  $\text{C}=\text{C}$ , que corresponde a componentes da lignina aromática (AMORIELLO *et al.*, 2020). O pico  $1533\text{ cm}^{-1}$  representa ligações  $\text{C}=\text{C}$  no anel aromático da lignina (MARTINS DOS SANTOS *et al.*, 2015). O pico  $1311\text{ cm}^{-1}$  foi atribuído ao  $\text{CH}_2$  da celulose e hemicelulose (XU *et al.*, 2013). O pico observado em  $1247\text{ cm}^{-1}$  corresponde a C-O-C (aril-alquil éter), indicando a remoção da hemicelulose. O pico  $1239\text{ cm}^{-1}$  corresponde a vibração de alongamento C-H, característico da celulose (SILBIR e GOKSUNGUR, 2019).

O pico  $1154\text{ cm}^{-1}$  vibração de alongamento C-O-C na celulose e hemicelulose (GONULTAS e CANDAN, 2018; XU *et al.*, 2013). O pico  $1032\text{ cm}^{-1}$  é correlato com alongamento C-O,  $\text{C}=\text{C}$ , C-C-O e correspondem a celulose, lignina e hemicelulose (XU *et al.*, 2013). O trecho  $1025\text{ cm}^{-1}$  corresponde a vibração de estiramento  $\text{C}=\text{O}$  (ACQUAH *et al.*, 2016). O pico  $889\text{ cm}^{-1}$  é a característico da ligação glicosídica  $\beta$ - (1  $\rightarrow$  4) celulose (CHANDEL *et al.*, 2014). No geral, os dados de FT-IR corroboram com os dados publicados na literatura para o BM ou biomassas lignocelulósicas.

**Figura 3** - Espectro infravermelho do bagaço de malte *in natura* e hidrolisado.



### **3.4 Composição Química dos Hidrolisados Hemicelulósicos**

Xilose foi o açúcar predominante nos hidrolisados de BM analisados por HPLC (Tabela 3). Estudos relatados na literatura mostram que a xilose sempre apresentará maior concentração em hidrolisados (CAMARGO *et al.*, 2015; MARCELINO *et al.* 2019), sendo esperado, já que 70% da hemicelulose é composta por xilanas (MUSSATTO *et al.*, 2005).

A presença de xilose e arabinose confirmam que houve solubilização da hemicelulose, que é composta principalmente por arabinoxilanos. A hexose (glicose) também foi liberada nos hidrolisados do BM. Mussatto *et al.* (2005) e Torres-Mayanga *et al.* (2019) relataram que a glicose pode ser produto tanto da hidrólise da hemicelulose quanto da celulose. Além disso, observou-se baixa concentração de celobiose (1,4 g/L), nos hidrolisados indicando que a uma pequena fração da celulose pode ter sido afetada pelo ácido. Esse resultado corrobora com a análise de FT-IR, a qual indica que a estrutura da celulose foi levemente alterada pela ação do ácido diluído, o que consequentemente pode ter ocasionado a liberação da celobiose.

Como esperado, quanto maior a concentração de sólidos BM 8,9%, 12,5% e 16,1% (m/v) maior a quantidade de açúcares totais nos hidrolisados, sendo 28,96 g/L, 38,98 g/L e 47,83 g/L, respectivamente (Tabela 3). Plaza *et al.* (2017) reportaram que ao hidrolisarem 5% e 15%

(m/v) de BM com ácido sulfúrico, a fração líquida apresentou 16,3 g/L e 47 g/L de açúcares, respectivamente, ou seja, a quantidade de açúcar triplicou.

Além da liberação de monossacarídeos, a hidrólise do BM também resultou na liberação de subprodutos como ácido acético e os compostos furânicos (HMF e furfural) (Tabela 3). Observou-se que quanto maior a concentração de sólidos, maior a concentração desses subprodutos.

Os hidrolisados hemicelulósicos apresentam elevada acidez com pH em torno de 1,0, sendo esse fator relacionado à liberação de grupos acetilados presentes na estrutura da hemicelulose (TORRES-MAYANGA *et al.*, 2019). Os subprodutos formados em hidrolisados BM podem ser removidos por carvão ativado. No entanto, este tratamento aumenta o custo total de produção (KONISHI, *et al.*, 2015).

A presença de ácido acético se deve à liberação de grupos acetila ligados à estrutura da xilana (MUSSATTO e ROBERTO, 2004; MUSSATTO *et al.*, 2005). Para que o ácido acético atue como um inibidor do crescimento de microrganismos, sua concentração deve ser maior que 3 g/L (FELIPE *et al.*, 1995). E a concentração desse ácido nos hidrolisados BM foi menor que 1,5 g/L, independentemente da quantidade de sólidos (Tabela 3). Os hidrolisados também apresentaram uma pequena concentração de HMF (Tabela 3), já que sua formação ocorre devido à decomposição da glicose (MUSSATTO *et al.*, 2005; TORRES-MAYANGA *et al.*, 2019), uma hexose que apresentou baixa concentração nos hidrolisados (Tabela 3).

Independentemente da quantidade de sólidos BM, o furfural apresentou uma concentração maior do que o HMF (Tabela 3). Essa condição também foi observada por Plaza *et al.* (2017). A ocorrência desse composto é devido à presença de pentoses que estão em grande quantidade nos hidrolisados, ou seja, o furfural é formado quando há decomposição da xilose e da arabionose (MUSSATTO *et al.*, 2005; TORRES-MAYANGA *et al.*, 2019). Geralmente, para que o furfural atue como inibidor do crescimento celular, sua concentração deve ser maior que 1,0 g/L (MARTINEZ *et al.*, 2000; MUSSATO *et al.*, 2005). Neste estudo, a concentração máxima de furfural foi de 0,4 g/L.

A concentração desses subprodutos está de acordo com relatos na literatura, mostrando que não são tóxicos para leveduras (MARCELINO *et al.*, 2019; VAJZOVIC *et al.*, 2012). Portanto, a hidrólise do BM com ácido sulfúrico diluído pode ser utilizada como despolimerização da hemicelulose, liberando alto teor de monossacarídeos e baixa concentração de subprodutos.

Além disso, a hidrólise ácida é geralmente mais econômica do que outras técnicas de despolimerização de biomassas e normalmente muitos estudos voltados para a degradação da hemicelulose utilizam ácidos diluídos. Isso ocorre, porque a estrutura química da hemicelulose é facilmente solubilizada em meio ácido (MUSSATTO *et al.*, 2005; MUSSATTO e ROBERTO, 2006; KONISHI *et al.*, 2015).

**Tabela 3** - Composição química do hidrolisado hemicelulósico do bagaço de malte via técnica de Cromatografia Líquida de Alto Desempenho – HPLC.

Composição química dos hidrolisados hemicelulósicos BM	Concentração			
	8.9%	12.5%	16.1%	
Monossacarídeos	Glicose	6.90 ± 0.15	9.24 ± 0.13	10.53 ± 0.76
	Xilose	15.24 ± 0.33	20.40 ± 0.29	25.54 ± 0.40
	Arabinose	6.01 ± 0.10	8.23 ± 0.33	10.32 ± 0.11
	Celobiose	0,81 ± 0.02	1,11 ± 0.07	1,44 ± 0
	<b>Total (g/L)</b>	<b>28,96</b>	<b>38,98</b>	<b>47,83</b>
Subprodutos	Ácido acético	0.85 ± 0.01	1.16 ± 0.01	1.46 ± 0.01
	Hidroximetilfurfural	0.10 ± 0.002	0.12 ± 0.008	0.15 ± 0.0002
	Furfural	0.2 ± 0.0003	0.3 ± 0.001	0.4 ± 0.005
	<b>Total (g/L)</b>	<b>1,15</b>	<b>1,58</b>	<b>2,01</b>

BM – Bagaço de malte.

### **3.5 Determinação da Condição Ótima para Produção de Biossurfactante**

Os efeitos de cada variável independente ( $x_1$  = temperatura,  $x_2$  = pH,  $x_3$  = bagaço/hidrolisado,  $x_4$  = inóculo) nas variáveis dependentes (I.E% e TS) obtidas a partir do planejamento experimental para *R. mucilaginosa* LBP5 são mostrados na Tabela 4. Os efeitos com valor de  $p$  menor ou próximo a 0,10 foram mantidos no modelo.

Para a emulsificação, o efeito linear mais importante foi o bagaço/hidrolisado, onde o acréscimo nessa relação promoveu proporcional aumento na emulsificação. Por outro lado, a temperatura por si só não apresentou efeito estatisticamente significativo ( $p > 0,10$ ) e foram observadas várias interações estatisticamente significativas entre a temperatura e outras variáveis independentes. Dentre as interações binárias, destacou-se o efeito sinérgico entre o pH e o bagaço/hidrolisado e a interação antagônica entre a temperatura e o bagaço/hidrolisado. Duas interações ternárias antagônicas também foram observadas, e o efeito da curvatura também foi estatisticamente significativo. Uma curvatura estatisticamente significativa indica que as variáveis independentes podem ser melhor descritas usando efeitos quadráticos e que uma continuidade do desenho experimental, em trabalhos futuros, pode

trazer mais informações sobre o sistema estudado. O modelo de emulsificação apresentou boa capacidade preditiva com coeficiente de determinação ( $R^2$ ) e coeficiente de determinação ajustado ( $R_{ajustado}^2$ ) próximo a 1,0 e estatisticamente significativo (pré-estresse  $<0,01$ ), já que foi encontrada falta de ajuste (falta de ajuste  $>0,05$ ). A combinação de todos os efeitos pode ser melhor interpretada através dos gráficos de contorno na Figura 4. A análise dos gráficos de contorno indicou que as melhores condições para aumentar as emulsificações correspondem a 31 °C, pH = 5,5, 16,1% (bagaço/hidrolisado) e 4,0% (v/v) de inóculo.

Para a TS, o efeito linear mais importante também foi bagaço/hidrolisado, e o aumento dessa relação promoveu redução da TS. Por outro lado, as variáveis pH e inóculo isoladamente não mostraram efeito estatisticamente significativo ( $p >0,10$ ), mas foram observadas interações estatisticamente significativas entre essas variáveis e as demais variáveis independentes. Dentre as interações binárias, destaca-se o efeito sinérgico entre bagaço/ hidrolisado e inóculo. O modelo de tensão superficial apresentou menor capacidade preditiva do que o modelo de emulsão, sendo estatisticamente significativo (anterior  $<0,01$ ), porém apresentando uma falta de ajuste (falta de ajuste  $<0,05$ ).

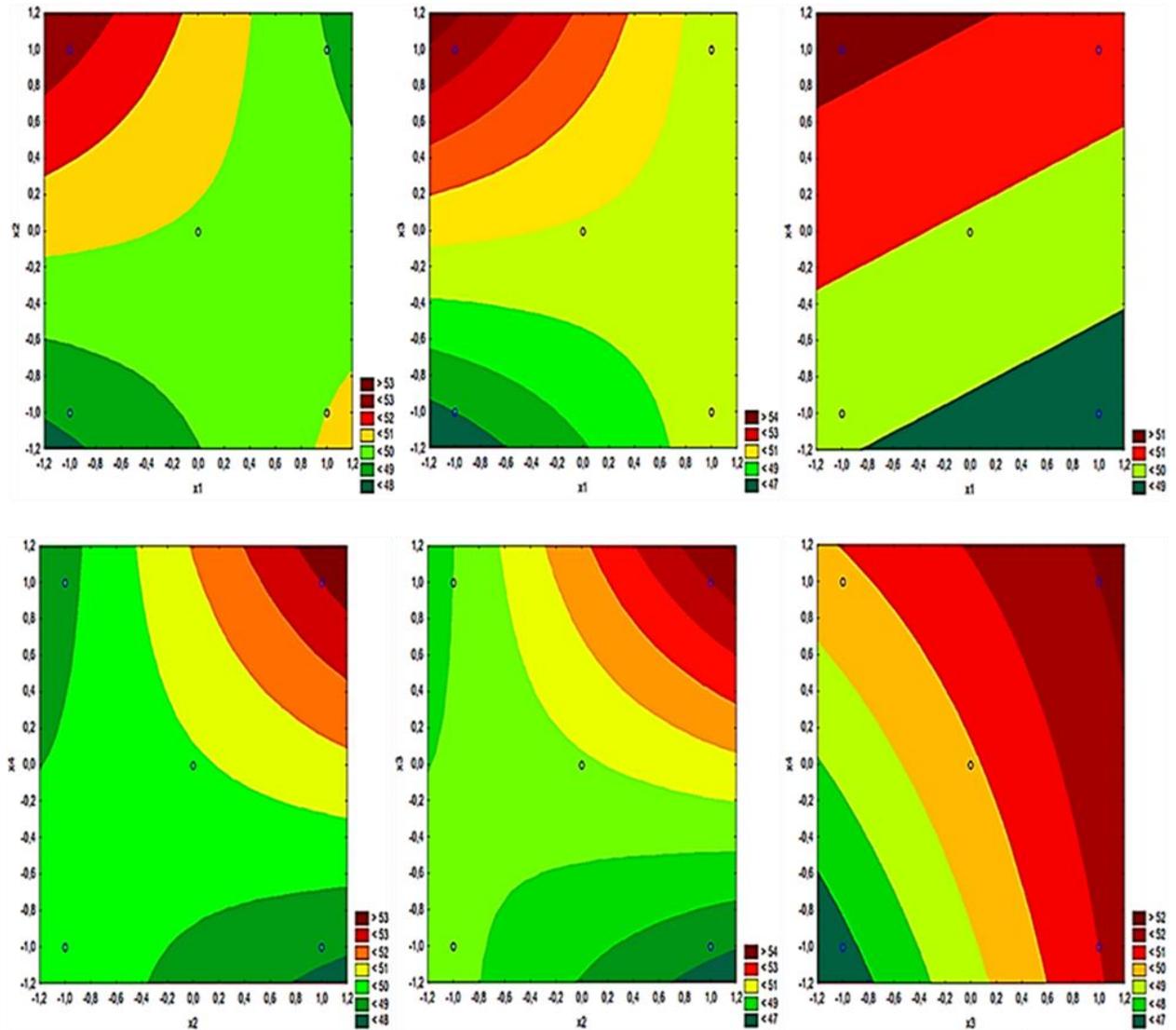
Dessa forma, para considerar os dois objetivos de maximizar a emulsão e minimizar a TS, uma otimização foi realizada usando os modelos da Tabela 4 e as funções de desejabilidade. Na Figura 5, o resultado desta otimização multiobjectivo foi apresentado confirmando que temperatura a 31 °C, pH = 5,5, 16,1% (bagaço/hidrolisado) e 4,0% (v/v) de inóculo foi o melhor conjunto de condições.

**Tabela 4** - Efeitos das variáveis independentes sobre as variáveis dependentes avaliadas para a produção de biossurfactante por *Rhodotorula mucilaginosa* LBP5. O valor *p* de cada efeito é mostrado entre colchetes.

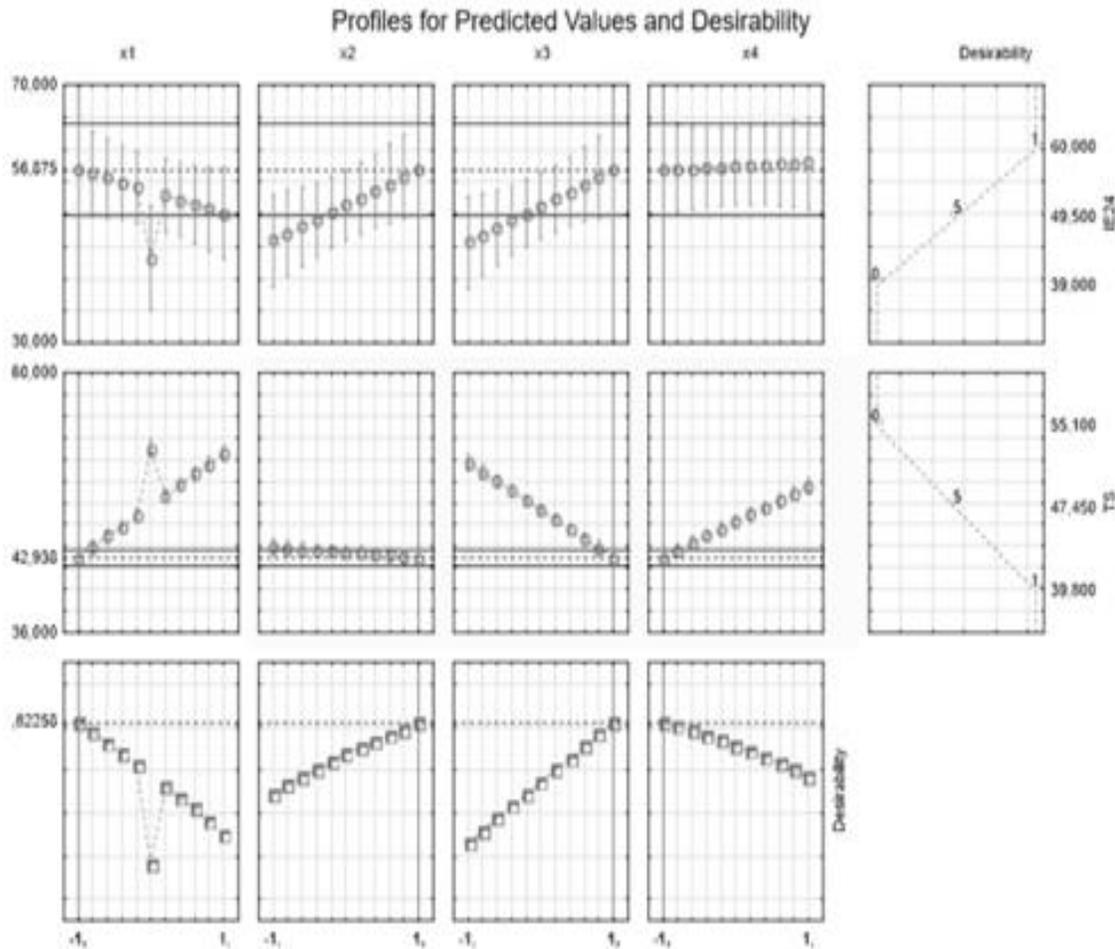
Efeito	I.E% (índice de emulsificação)	TS (Tensão superficial)
<b>Intercepto</b>	49,88 (< 0,01)	49,76 (< 0,01)
<b>Curvatura</b>	-20,75 (< 0,01)	10,58 (0,01)
X <sub>1</sub>	-0,75 (0,19)	2,53 (0,04)
X <sub>2</sub>	1,50 (0,03)	0,98 (0,37)
X <sub>3</sub>	3,25 (< 0,01)	-3,63 (0,01)
X <sub>4</sub>	2,00 (0,01)	0,90 (0,41)
X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub>	-2,50 (< 0,01)	2,43 (0,05)
X <sub>1</sub> *X <sub>3</sub>	-3,25 (< 0,01)	-
X <sub>1</sub> *X <sub>4</sub>	-	-
X <sub>2</sub> *X <sub>3</sub>	3,50 (< 0,01)	2,33 (0,06)
X <sub>2</sub> *X <sub>4</sub>	2,75 (< 0,01)	-
X <sub>3</sub> *X <sub>4</sub>	-1,00 (0,10)	2,85 (0,03)
X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub> *X <sub>3</sub>	-3,50 (< 0,01)	1,83 (0,12)
X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub> *X <sub>4</sub>	-	-
X <sub>1</sub> *X <sub>3</sub> *X <sub>4</sub>	-	-2,80 (0,03)
X <sub>2</sub> *X <sub>3</sub> *X <sub>4</sub>	-1,75 (0,02)	-
R <sup>2</sup>	0,9895	0,8973
R <sub>ajusted</sub> <sup>2</sup>	0,9644	0,7505
P <sub>regression</sub>	0,0004	0,0125
P <sub>lackoffit</sub>	0,4585	0,0244

x<sub>1</sub> = temperatura, x<sub>2</sub> = pH, x<sub>3</sub> = bagaço/hidrolisado, x<sub>4</sub> = inóculo.

**Figura 4** - Gráfico de contorno de emulsificação do meio de cultura livre de células de *Rhodotorula mucilaginosa* LBP5.  $x_1$  = temperatura,  $x_2$  = pH,  $x_3$  = BM/hidrolisado,  $x_4$  = inóculo.



**Figura 5.** Gráfico de otimização multiobjetivo para maximizar a emulsão e minimizar a tensão superficial.



Na literatura a análises de diferentes variáveis visando estabelecer a melhor condição e otimização da produção de biossurfactante, já que vários fatores podem influenciar a produção de biossurfactante, como por exemplo o tipo e concentração do substrato usado como fonte de carbono e nitrogênio, pH, temperatura e concentração do inóculo (CHANDRAN e DAS, 2011; RIBEIRO *et al.*, 2012b; JOSHI-NAVARE, 2014; LINS, 2019).

A fonte de carbono influencia muito a estrutura química e a produção de biossurfactantes (BANAT *et al.*, 2014). O pH afeta a permeabilidade da membrana do microrganismo, influenciando no metabolismo. A temperatura também pode afetar o crescimento de microrganismos (CHANDRAN e DAS, 2011; KARAMEROU e THEODOROPOULOS, 2016; CAMARGO *et al.*, 2018; LINS, 2019).

Chandran e Das (2011) testaram variações de temperatura (25 °C a 50 °C), pH (3,9 a 9,5) e óleo diesel (0,5% a 5,0%) como fonte de carbono para produção de biossurfactante por

*R. mucilaginosa* e relataram que as condições ideais para máxima emulsificação e redução da TS foram um valor de pH de 7,5, temperatura de 35 °C e concentração de substrato 2% (v/v) óleo diesel. Nessas condições, a levedura produziu sofrorolipídios com capacidade de redução da TS para 33 mN/m e emulsificação de hidrocarbonetos de 86%.

Lins (2019) usou o planejamento fatorial completo para determinar a melhor combinação de milhocina (2,5%, 5,0% e 7,5%) com óleo de soja pós fritura (1,0%, 3,0% e 5,0%) como fonte de carbono para *R. mucilaginosa* para produzir bioemulsificante. Como resultado, a emulsificação foi intensificada quando o meio de cultura continha 2,5% de milhocina e 1,0% de óleo de soja pós fritura, pH em torno de 5,0 e temperatura de 28 °C. Conforme os autores, a partir dessa condição a *R. mucilaginosa* produz bioemulsificante com capacidade de emulsificar 95,65% de óleo de motor usado.

Leveduras de outras de espécies, mas pertencentes ao gênero *Rhodotorula*, mostraram capacidade de produção de biossurfactantes em diferentes fontes de carbono. Sen *et al.* (2017) relataram a produção de sofrorolipídios pela *R. babjevae* YS3 em meio sintético Bushnell-Haa (contendo 10% de glicose), onde os mesmos reduziram a TS de 70 para 32,6 mN/m e apresentou capacidade de emulsificar hidrocarbonetos de 62,26% (óleo de motor).

Ribeiro *et al.* (2012b) estudaram a combinação de diferentes resíduos industriais como fonte de carbono para produção de biossurfactante. Os autores relataram que *R. glutinis* UCP 1555 foi capaz de produzir biossurfactante em meio de cultivo contendo 10% de resíduos da produção de sorvete, 9% licor de maceração do milho e 30% manipueira. O biossurfactante produzido era composto por 11,24% proteína, 63,13% carboidrato e 16,91% lipídios, com propriedades tensoativas e emulsificantes, reduzindo a TS para 28,2 mN/m e emulsificação de 86,36% do óleo de motor. Em outro estudo, usando a mesma levedura, foi modificado a fonte de carbono (25% resíduo de fritura de óleos vegetais e 2% de licor de maceração do milho). O biossurfactante também mostrou capacidade de reduzir a TS e emulsificar óleo de motor com valores iguais a 34,01 mN/m e 70%, respectivamente (Max *et al.*, 2012).

Além dos biossurfactantes supracitado, há relatos na literatura que *R. mucilaginosa* é capaz de produzir biossurfactante do tipo glicoproteína, com capacidade de estabilização da astaxantina, um tipo de carotenoide antioxidante (KAWAHARA *et al.*, 2013).

É notório que diferentes substratos já foram estudados para produção de biossurfactante pelo gênero *Rhodotorula*, no entanto, não há relatos sobre o uso de hidrolisados

hemicelulósicos como fonte de carbono para produção de tensoativos por espécies desse gênero.

Entre os poucos trabalhos relatados na literatura, Marcelino *et al.* (2017) mostraram o potencial do hidrolisado hemicelulósico do bagaço de cana-de-açúcar como matéria-prima para a produção de glicolipídios pela levedura *Scheffersomyces stipitis*, com atividade larvicida contra o mosquito *Aedes aegypti*, vetor de diferentes arbovírus.

Hidrolisados hemicelulósicos da cana-de-açúcar também foram usados como fonte de carbono pela levedura *Cutaneotrichosporon mucoides*, para produção de biossurfactante com propriedades emulsificantes, pois o biossurfactante emulsificou diferentes substratos hidrofóbicos quando misturado com querosene, hexano, óleo lubrificante, óleo de soja, óleo de canola, tolueno, com índice de emulsificação de 65%, 52,5%, 55%, 50%, 51% e 50%, respectivamente (MARCELINO *et al.*, 2019).

O índice de emulsificação pode variar bastante. Esse fato pode ocorrer devido a estrutura do biossurfactante e sua afinidade pelo tipo de substrato hidrofóbico usado nos testes de emulsificação. Também ficou evidente que a *R. mucilaginoso* LBP5 quando submetida a diferentes condições experimentais pode produzir biomoléculas com propriedades semelhantes a biossurfactantes (redução da TS) e a bioemulsificantes (forma emulsão, mas não é eficaz para reduzir a TS). Conforme Uzoigwe *et al.* (2015) uma biomolécula pode apresentar propriedades surfactantes e emulsificantes, o que possibilita ampla aplicação na indústria.

### **3.6 Produção de Biossurfactante pela *Rhodotorula mucilaginoso* LBP5**

Conforme o resultado do planejamento experimental a melhor combinação das condições para produção de biossurfactante pela *R. mucilaginoso* LBP5 foi: temperatura a 31 °C, pH inicial 5,5, 16,1% (m/v) (bagaço/hidrolisado) e 4,0% (v/v) de inóculo. A combinação dessas condições proporcionou a produção de um biossurfactante obtido durante o processo de fermentação com propriedades emulsificantes, pois foi capaz de emulsificar diferentes substratos hidrofóbicos (Figura 5).

Na Figura 6 está apresentada a cinética do crescimento microbiano, variação do pH, consumo de açúcares, e o monitoramento das propriedades tensoativas e emulsificantes durante os ensaios fermentação usando hidrolisado hemicelulósico como fonte de carbono.

Na curva de crescimento da levedura (Figura 6a), observou-se que a fase exponencial teve início em 3 h de fermentação e em 24 h as células atingiram a fase estacionária, com declínio a partir 54 h. Em paralelo, como a fase de crescimento celular, evidenciou-se que durante às 19 h iniciais houve pouca produção de metabólitos com capacidade surfactante, pois apresentava elevada TS (57 mN/m) e baixo índice de emulsificação. No entanto, a partir de 24 h a TS começou a reduzir, atingindo 35 mN/m em 72 h. Nesse mesmo período de tempo, o I.E% começou a aumentar até atingir ~65% em 72 h.

A produção de biossurfactante pela levedura a partir de hidrolisados hemicelulósicos ocorreu predominantemente durante a fase estacionária sugerindo que o biossurfactante produzido é um metabólito secundário. De acordo com Santos da Silva *et al.* (2018), os biossurfactantes são considerados metabólitos secundários extracelulares ou ficam aderidos a membrana celular, sendo que a estrutura deste depende da fonte de carbono e nitrogênio presente no meio de cultivo. Marcelino *et al.* (2019) e Astuti *et al.* (2019) também relatam que a produção de biossurfactante está diretamente relacionada com o crescimento do microrganismo no meio de cultivo.

Na Figura 6a pode-se observar a variação nas propriedades emulsificantes, pois o I.E% foi de 0 para a aproximadamente 65% para querosene e 46% para óleo de soja. Marcelino *et al.* (2019) reportaram que o biossurfactante produzido pelo *Cutaneotrichosporon mucoides* em hidrolisado hemicelulósico do bagaço de cana apresentou I.E% de aproximadamente 70% em querosene, ao final de 72 h de cultivo. Camargo *et al.* (2018) também mostraram que o biossurfactante produzido por *R. glutinis* emulsificou apenas 45,8% do óleo de soja. A variação do I.E%, pode estar relacionada com o tipo de biossurfactante produzido e sua afinidade pelo composto hidrofóbico testado. A baixa emulsificação de substratos hidrofóbicos pode ser devido à incapacidade do biossurfactante em estabilizar as gotículas microscópicas da emulsão (ILORI *et al.*, 2005).

Foi possível verificar que ocorreu elevação do pH, já que o pH inicial do meio de cultivo era de 5,5 e ao final do processo de fermentação atingiu pH 7,7 (Figura 6a). Camargo *et al.* (2018) estudaram a produção de biossurfactante pela *R. mucilaginoso* e *R. glutinis* e relataram que essas leveduras elevaram o pH inicial em torno 4,0 para 6,9 e 7,6, respectivamente. Possivelmente, o aumento do pH do meio de cultivo deve estar relacionado com a produção de metabólitos surfactantes. Geralmente, as leveduras pigmentadas apresentam capacidade

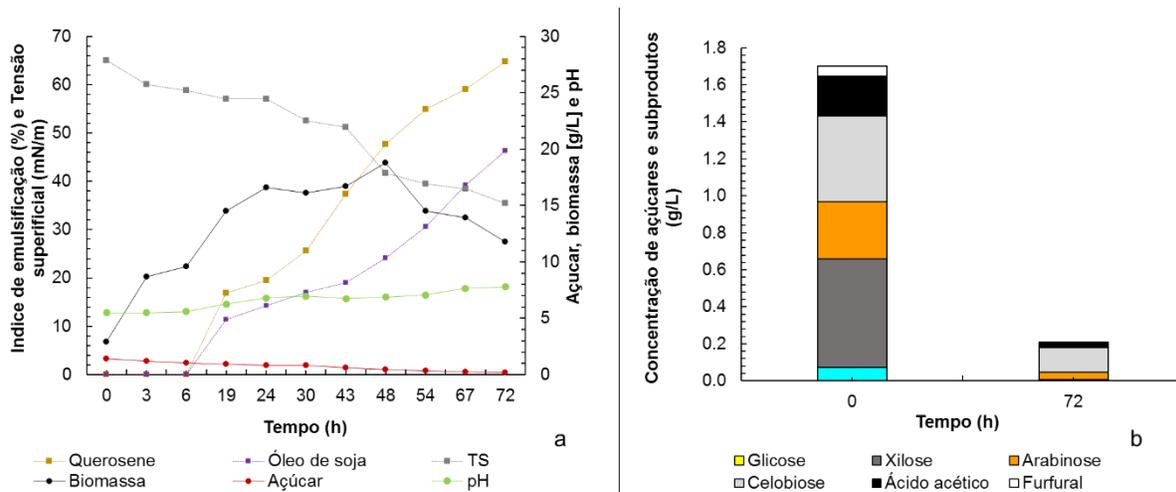
de crescer sob uma ampla faixa de pH (2,5 a 9,5) (LATHA *et al.*, 2005; LIBKIND *et al.*, 2008; FRENGOVA e BESHKOVA, 2009).

Ao final de 72 h de fermentação o consumo de açúcar através do método DNS foi de 92,9% (Figura 5a). No entanto, pelo método de HPLC, foi quantificado que ao início (0 h) da fermentação havia 1,43 g/L de açúcares e em 72 h essa concentração decresceu para 0,17 g/L, apresentando 87,48% de consumo (Figura 6b).

Em relação a assimilação de cada açúcar, a *R. mucilaginosa* LBP5 consumiu 100% da glicose, 98,72% da xilose, 87,81% da arabinose e 71,17% da celobiose. É evidente que a *R. mucilaginosa* LBP5 consegue assimilar tanto pentoses quanto hexoses. Petrick *et al.* (2013) reportam que as leveduras carotenogênicas conseguem assimilar diferentes fontes de carbono, como glicose, xilose, celobiose, sacarose, glicerol e sorbitol. Portanto, uma variedade de biomassas lignocelulósicas podem ser utilizadas como substratos de baixo custo para a formulação dos meios de cultivo, visando a produção de biossurfactante.

Em relação a presença de subprodutos nos meios de cultivo, observou-se ao início da fermentação 0,21 g/L de ácido acético e 0.05 g/L de furfural. Em 72 h a levedura conseguiu metabolizar 85,27% do ácido, sendo o furfural totalmente metabolizado (Figura 6b). Esse resultado indica que a *R. mucilaginosa* LBP5 é um microrganismo capaz de ser usado em processos fermentativos para produção de biossurfactantes em meios de cultivos que contenham subprodutos de degradação de biomassas lignocelulósicas. A capacidade da *R. mucilaginosa* em metabolizar produtos inibitórios já foi relatada por Vajzovic *et al.* (2012) visando a produção de xilitol e etanol. Os estudos mostraram que essa levedura é capaz de metabolizar ácido acético (5 g/L), furfural (5 g/L) e HMF (15 g/L).

**Figura 6** - Cinética da produção de biossurfactante pela *Rhodotorula mucilaginosa* LBP5 em meio contendo hidrolisados hemicelulósicos e avaliação das propriedades emulsificantes durante 72 h de fermentação (a). Quantificação de açúcares, no início (0 h) e ao final (72 h) da fermentação pela técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência - HPLC (b).



### **3.7 Propriedades Funcionais do Biossurfactante**

#### **3.7.1 Índice de Emulsificação (I.E%), Atividade Emulsificante (A.E) e Estabilidade da Emulsão (E.E) em Diferentes Substratos Hidrofóbicos**

A emulsificação é uma das propriedades funcionais dos biossurfactantes, que envolve a capacidade do sobrenadante livre de células em emulsionar dois líquidos imiscíveis, ou seja, misturando-os e formando uma única camada emulsionada. Dessa maneira, o percentual da camada emulsificada é calculado pelo I.E%.

O potencial de emulsificação do biossurfactante produzido pela levedura foi testado em diferentes compostos hidrofóbicos. Geralmente, o I.E% e a A.E em diferentes óleos são parâmetros bastante analisados quando se trata de biossurfactantes (ILORI *et al.*, 2005; BARROS *et al.*, 2008; MARCELINO *et al.*, 2019).

Na Figura 7a, observou-se que o I.E% de 65% para o querosene e 46% para o óleo de soja. Em relação a A.E do biossurfactante, o mesmo apresentou atividade máxima de 1,46 U.E/mL para querosene e no máximo de 0,45 U.E/mL para óleo de soja. Valores acima de 1,0 U.E/mL indicam que as emulsões formadas são mais compactas e apresentam glóbulos menores com melhor qualidade. Em contrapartida, os baixos valores de U.E/mL indicam que

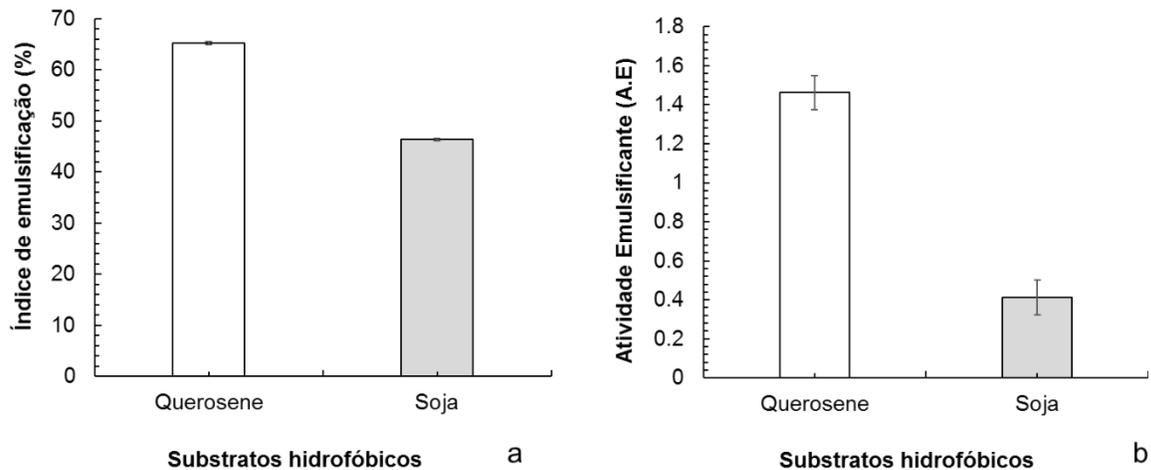
as emulsões formadas são menos compactadas e com menor qualidade (DESAI e BANT, 1997; BENTO *et al.*, 2008; MARCELINO *et al.*, 2019). Marcelino *et al.* (2019) mostraram que a A.E varia bastante em diferentes substratos hidrofóbicos como querosene, hexano, óleo lubrificante e óleo de canola, onde a mesma foi de 2,9, 1,0, 1,3 e 1,0 U.E/mL, respectivamente.

Como observado no presente estudo a A.E é menor em óleo. Esse fato pode estar relacionado com a compactação dos glóbulos, pois na emulsão do óleo de soja, os glóbulos são menores quando comparado com as emulsões formadas entre o biossurfactante e querosene. Sendo assim, o biossurfactante de *R. mucilaginoso* LBP5 mostrou ser melhor emulsificante de hidrocarboneto.

A Figura 8 mostra as micrografias das emulsões formadas entre biossurfactante e os substratos hidrofóbicos (querosene e óleo de soja). Pode-se observar a presença de glóbulos emulsionados no óleo de soja e querosene, onde a formação desses está diretamente relacionada com a estabilidade das emulsões. A emulsão formada no querosene apresentou estabilidade, pois exibiu melhor empacotamento dos glóbulos.

Conforme Franzol e Rezende (2015), glóbulos pequenos são mais fáceis de formar empacotamentos e, por isso, originam emulsões com mais estabilidade. No entanto, apesar da emulsão do óleo de soja apresentar glóbulos pequenos, está foi pouco estável, isso pode ocorrer devido os glóbulos emulsionados não estarem empacotados e, além disso, estes glóbulos nas emulsões não são estáticos e podem se desfazer e se formar várias vezes, o que pode provocar a instabilidade.

**Figura 7** - Índice emulsificação I.E% (a) e atividade emulsificante (A.E) (b) do biossurfactante produzido pela *Rhodotorula mucilaginosa* LBP5.

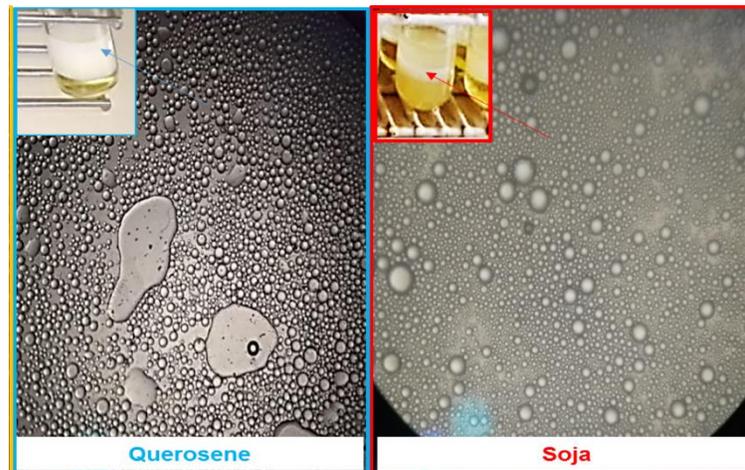


O resultado da determinação da E.E nos compostos hidrofóbicos está apresentado na Tabela 5. Conforme Willumsen e Karlson (1996), emulsões estáveis são consideradas quando a emulsão mantém mais 50% da camada emulsificada após 24 h. Observou-se que no período de 24 h – 96 h a emulsão formada no querosene manteve-se estável, pois a redução percentual do valor da emulsão foi inferior a 2%. Para o óleo de soja houve uma maior redução percentual nas emulsões formadas (10%), ou seja, as emulsões formadas nesse substrato apresentam menos estabilidade quando comparada ao querosene.

O resultado da E.E indica que o querosene tende a formar emulsões mais estáveis por um longo período. Vale ressaltar, que o processo de emulsificação pode depender diretamente da afinidade do biossurfactante com o substrato hidrofóbico utilizado (ILORI *et al.*, 2005; RUFINO *et al.*, 2007; MARCELINO *et al.*, 2019).

Biossurfactantes que apresentam capacidade de formar emulsões estáveis são eficientes para solubilizar compostos imiscíveis e podem ser aplicados na indústria petrolífera em processos de biorremediação (DEEPIKA *et al.*, 2017; ASTUTI *et al.*, 2019).

**Figura 8** - Microscopia óptica das emulsões formadas entre o biossurfactante e os substratos hidrofóbicos (querosene e óleo de soja) (aumento de 100X).



**Tabela 5** - Estabilidade das emulsões do biossurfactante produzido pelas *Rhodotorula mucilaginosa* LBP5 em diferentes substratos hidrofóbicos.

Tempo (h)	Substratos hidrofóbicos	
	Querosene I.E. $\pm$ dv	Óleo de Soja I.E. $\pm$ dv
24	65,2 $\pm$ 0,28	46,3 $\pm$ 0,49
48	65,0 $\pm$ 0,07	45,5 $\pm$ 0,70
72	64,2 $\pm$ 0,35	44,3 $\pm$ 0,42
96	64,2 $\pm$ 0,35	39,7 $\pm$ 0,35

I.E - índice de emulsificação; dv – desvio padrão

### **3.8 Estabilidade Frente a pH, Temperatura e Salinidade**

Muitos biossurfactantes apresentam estabilidade a elevadas temperaturas, valores de pH e salinidade (ILORI *et al.*, 2005; IBRAHIM *et al.*, 2013; MARCELINO *et al.*, 2019; FERREIRA *et al.*, 2020). A estabilidade do biossurfactante produzido pela *R. mucilaginosa* LBP5 foi investigada através da estabilidade da emulsificação em compostos hidrofóbicos (querosene, óleo de soja). Os resultados dos testes estão apresentados na Figura 9, e

mostram que o biossurfactante de *R. mucilaginosa* LBP5 apresentou estabilidade frente a temperatura, pH e salinidade, já que a emulsão fica estável por mais de 24 h.

A emulsão formada pelo sistema biossurfactante/substrato hidrofóbico resultou em uma baixa variação do valor do I.E% (61 - 59% querosene; 41 - 35% óleo de soja) para temperatura (40 a 80 °C). Entretanto, quando o biossurfactante foi submetido 121 °C o I.E% foi de 41% para o querosene, 20% para o óleo de soja, indicando que o biossurfactante é termoestável (Figura 9a). No entanto, observou-se que quanto maior a temperatura menor era o índice de emulsificação. Esse fato que também foi mostrado em estudo realizado por Marcelino *et al.* (2019) que submeteram um biossurfactante na faixa de temperatura de 4 a 70 °C e, o I.E% foi de (65 - 70% em hidrocarbonetos). Os autores também constataram que quanto mais elevada a temperatura (90 e 100 °C) menor é o I.E%. Aparna *et al.* (2012) relataram que temperaturas elevadas causam alteração estrutural na molécula do biossurfactante, afetando suas propriedades físicas.

No entanto, em um estudo realizado por Ferreira *et al.* (2020), o surfactante biológico produzido pelo fungo *Mucor hiemalis* apresentou I.E% maior que 80% quando submetido a variação de temperatura de 10 a 100 °C. Possivelmente, o elevado I.E% mostrado nesse estudo, deve-se a capacidade de espécies do gênero *Mucor* em produzir bioemulsificantes.

O I.E% do biossurfactante/substrato hidrofóbico foi avaliado em diferentes valores de pH (2 - 10). No valor de pH extremo (2,0) não houve formação de emulsão em nenhum substrato hidrofóbico. Em contrapartida, nos valores de pH de 4 a 10 houve formação de emulsão estáveis, com I.E% de 45 a 59% (querosene), 31 a 38% (óleo de soja) (Figura 9b).

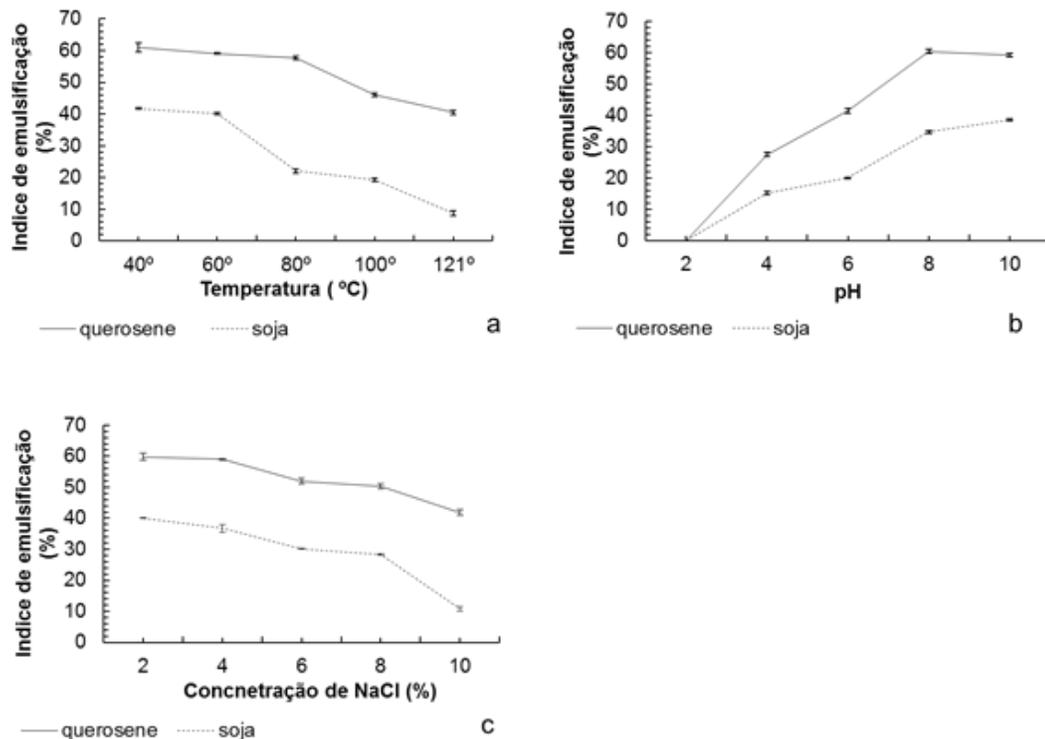
É evidente que o pH afeta a formação de emulsões e esse fator é bastante relatado na literatura (IBRAHIM *et al.*, 2013; MARCELINO *et al.*, 2019; FERREIRA *et al.*, 2020). Geralmente condições altamente ácidas afetam de forma negativa a formação de emulsões, pois em meio ácido pode ocorrer um desequilíbrio eletrostático promovendo a floculação e sedimentação, o que favorece a coalescência dos glóbulos da emulsão, possivelmente pela modificação estrutural do biossurfactante, fazendo com que ocorra aumento do tamanho das micelas formadas pelo biossurfactante e o substrato insolúvel (KNOBLICH *et al.*, 1995; ANTUNES, 2007; BARROS *et al.*, 2008; MARCELINO *et al.*, 2019; NOGUEIRA FELIX *et al.*, 2019).

Em relação a salinidade, os valores de I.E% para as emulsões formadas biossurfactante/substrato hidrofóbico, o I.E% para concentração variando de 2 a 8% de NaCl

foram de 61 a 50% para o querosene, e 39 a 28% óleo de soja. Quando a concentração foi a 10% de NaCl, o I.E.% foi de 39%, 20% para querosene e óleo de soja, respectivamente (Figura 9c). Quanto maior a concentração de sal no meio, maior deve ser a força iônica, convertendo as emulsões a sistemas termodinamicamente instáveis (CALDERON e POULIN, 1999; MARCELINO *et al.*, 2019).

Em geral, o biossurfactante produzido no presente trabalho apresentou estabilidade frente as condições de temperatura, salinidade e pH. Estudos relatam sobre a estabilidade de biossurfactante em condições extremas, visando sua aplicabilidade em diferentes áreas industriais, principalmente em recuperação microbiana aprimorada de óleo (OBAYORI *et al.*, 2009; CHANDRAN e DAS, 2010; DAVISHI *et al.*, 2011).

**Figura 9** - Estabilidade do biossurfactante produzido *Rhodotorula mucilaginosa* LBP5 em diferentes condições de temperatura (a), pH (b) e salinidade (c).



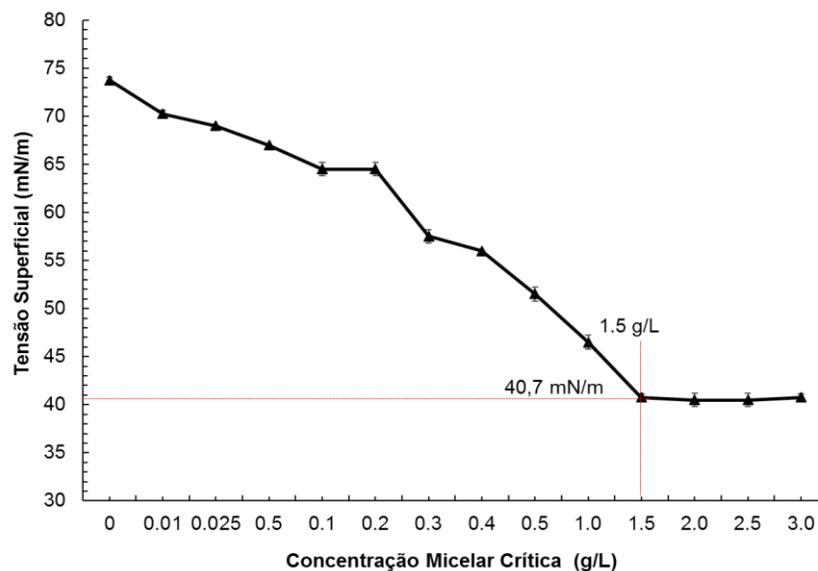
### **3.9 Concentração Micelar Crítica - CMC**

O biossurfactante bruto produzido pela *R. mucilaginosa* LBP5 apresentou capacidade de redução máxima da TS da água 73 mN/m para 40,7 mN/m, sendo que a CMC foi encontrada a 1.5 g/L, ponto em que, um aumento na concentração do biossurfactante de 1.5 a 3.0 g/L (Figura 10), não teve mais efeito na TS, pois quando a CMC é atingida a TS permanece constante (WHANG *et al.*, 2008; SANTOS *et al.*, 2016; SHARMA, 2016). De acordo com Desai e Banat (1997) a CMC dos biossurfactantes é influenciada pela sua estrutura química e pelo pH, temperatura e força iônica do solvente.

Lins (2019), também estudando as propriedades de um tensoativo produzido por uma linhagem de *R. mucilaginosa*, relatou que a CMC foi de 2,5 g/L, ou seja, superior a CMC encontrada nesse estudo. Em contrapartida, valor inferior de CMC foi relatado por Chandran e Das (2011), sendo de 250 mg/L para soforolipídios pela *R. mucilaginosa*.

Outra espécie de levedura pertencente ao gênero *Rhodotorula* foi estudada por Sen *et al.* (2017). Os autores mostraram que a levedura *R. babjevae* YS3 produz soforolipídios com CMC de 130 mg/L.

**Figura 10** - Concentração micelar crítica (CMC) e tensão superficial (TS) mínima do biossurfactante produzido por *Rhodotorula mucilaginosa* LBP5.

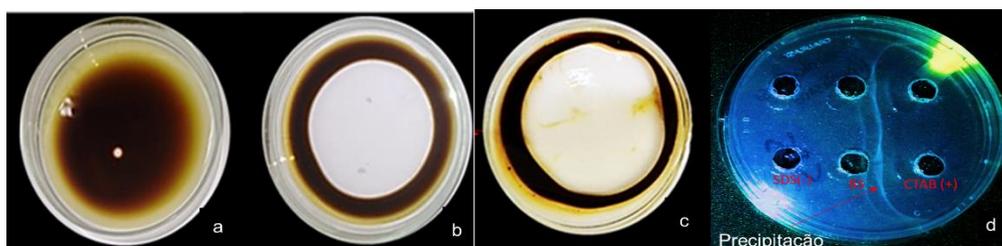


### **3.10 Caracterização Parcial do Biossurfactante**

O biossurfactante bruto foi testado quanto à dispersão de óleo e caráter iônico (Figura 11). O resultado do ensaio de deslocamento de óleo foi positivo, pois o biossurfactante apresentou atividade de superfície, e o diâmetro da zona clara foi de 6 cm (Figura 11c). O controle negativo (contendo água) mostra que não houve espelhamento de óleo (Figura 11a). O surfactante sintético SDS foi usado como controle positivo (Figura 11b) e o diâmetro da zona clara desse tensoativo foi semelhante ao biossurfactante produzido pela *R. mucilaginosa* LBP5 (6 cm). Morikawa *et al.* (2000) relataram que o diâmetro da zona clara é diretamente proporcional ao tensoativo presente na suspensão. Quanto maior o diâmetro da zona clara, maior é a atividade de superfície do surfactante (IBRAHIM, 2018).

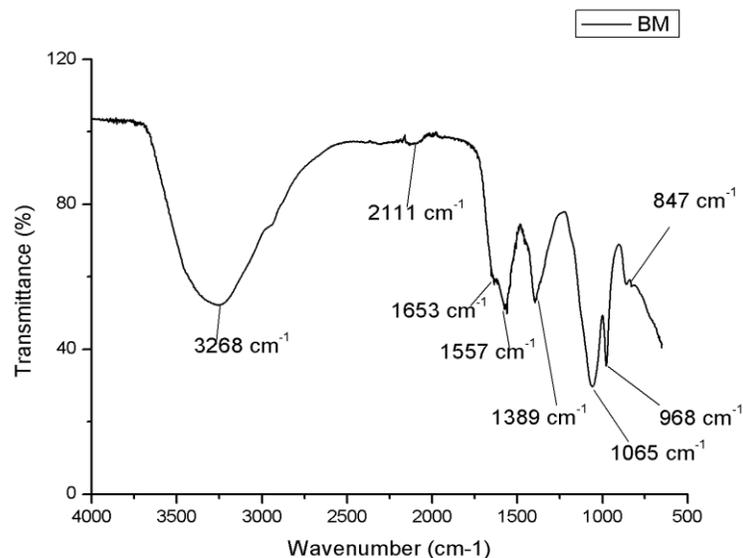
O método de dupla difusão em ágar descrito por Meylheuc *et al.* (2001) baseia-se na difusão passiva de duas substâncias com cargas opostas em um gel de baixa dureza (1% de agarose). A partir desse ensaio, determinou-se que o biossurfactante produzido pela *R. mucilaginosa* revelou natureza aniônica, devido a presença de uma linha de precipitação entre o biossurfactante e o composto catiônico CTAB (Figura 11 d). Camargo *et al.* (2018) usaram o mesmo teste e reportaram que espécies de leveduras pertencentes ao gênero *Rhodotorula* produzem biossurfactante aniônicos. Outros estudos também usam esse tipo de ensaio para estudar a natureza iônica dos biossurfactantes (LUNA *et al.*, 2013; RUFINO *et al.*, 2014; IBRAHIM, 2018).

**Figura 11** - Teste de deslocamento de óleo: Água sobre óleo (a), surfactante SDS (b), biossurfactante produzido pela *Rhodotorula mucilaginosa* LBP5 em hidrolisado hemicelulósico (c). Caráter iônico do biossurfactante em ensaio de dupla difusão em ágar de baixa dureza (1%) (d).



A espectroscopia do IR foi realizada para determinar a presença de grupos funcionais presentes na estrutura do biossurfactante. O espectro do IR do biossurfactante produzido pela *R. mucilaginosa* LBP5 está representado na Figura 12. O espectro revelou uma banda em  $3500\text{ cm}^{-1}$  a  $3300\text{ cm}^{-1}$ , indicando vibração de alongamento OH. O pico em  $2111\text{ cm}^{-1}$  foi designado como ligações C-H alifáticas (JAIN, 2012). O pico em  $1653\text{ cm}^{-1}$  representa grupos carbonil (-COO e -COOH) (CORREA *et al.*, 2020). A banda N-H foi atribuída ao pico  $1557\text{ cm}^{-1}$ . O  $1389\text{ cm}^{-1}$  indica cadeia alifáticas (-CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>) (SOUSA *et al.*, 2014). O pico de em  $1065\text{ cm}^{-1}$  é devido a vibração C-O-C, nas porções éter de carboidrato (CORREA *et al.*, 2020). Os picos  $968\text{ cm}^{-1}$  e  $847\text{ cm}^{-1}$  são característicos de ligação glicosídica (DEEPIKA *et al.*, 2017). Com base nos resultados da espectroscopia do infravermelho, pode-se inferir que o biossurfactante tem característica de glicolipídios, no entanto, há necessidade de outras caracterizações como espectroscopia de massa e ressonância magnética nuclear para definir a verdadeira estrutura desse tensoativo.

**Figura 12** - Espectro do infravermelho obtido do biossurfactante produzido pela *Rhodotorula mucilaginosa* LBP5.



#### 4. CONCLUSÃO

- ✓ A hidrólise ácida do BM foi adequada para promover a liberação de açúcares fermentáveis (glicose, xilose, arabinose e celobiose) e uma baixa quantidade de compostos furfural, HMF e ácido acético.
- ✓ O hidrolisado do BM pode ser usado como substrato alternativo para processos fermentativos visando a produção de bioprodutos com valor agregado.
- ✓ A levedura *R. mucilaginosa* LBP5 foi capaz de metabolizar durante a fermentação os açúcares, compostos como ácido acético, furfural e HMF gerados no processo de hidrólise com ácido.
- ✓ A melhor condição fermentativa foi estabelecida com pH 5,5, temperatura 31 °C, 16,1% m/v (bagaço/hidrolisado) e 4,0 % (v/v) de inóculo.
- ✓ O biossurfactante produzido apresentou natureza aniônica e provavelmente é do tipo glicolipídios, com uma CMC de 1.5 g/L reduz a TS para 35 mN/m.
- ✓ O biossurfactante formou emulsões estáveis ao longo de 96 h e estabilidade frente a condições extremas como temperatura (40 – 80 °C), pH (4 - 10) e salinidade (2 - 8%), esses resultados indicam que pode ser aplicado em diversos ambientes.
- ✓ Portanto, concluímos que a levedura tem potencial para ser empregada na produção de surfactantes biológicos a partir de resíduo agroindustrial.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- ACQUAH, G. S.; VIA, B. K.; FASINA, O. O.; ECKHARDT, L. G. Rapid quantitative analysis of forest biomass using Fourier Transform Infrared Spectroscopy and partial least squares regression. **Journal of Analytical Methods in Chemistry**. Auburn, v.2016, p.1-10, Nov. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1155/2016/1839598>.
- AMORIELLO, T.; FIORENTINO, S.; VECCHIARELLI, V.; PAGANO, M. Evaluation of spent grain biochar impact on hop (*Humulus lupulus* L.) growth by multivariate image analysis. **Applied Sciences**. Italy, v.10, n.2, 533. Dec. 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/app10020533>.
- ANTUNES, M. S. Estudo à microscopia eletrônica da estabilidade física de emulsões lipídicas utilizadas em misturas 3 em 1. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**. Rio de Janeiro, v.22, n.1, p.43-53, jan.2007. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-692141>.
- APARNA, A.; SRINIKETHAN, G.; SMITHA, H. Production and characterization of biosurfactant produced by a novel *Pseudomonas* sp. 2B. **Colloids and Surfaces. B: Biointerfaces**. India, v.95, p.23–29, June.2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2012.01.043>.
- ASTUTI, D. I.; PURWASENA, I. A.; PUTRI, R. E.; AMAIYAH, M.; SUGAI, Y. Screening and characterization of biosurfactant produced by *Pseudoxanthomonas* sp. G3 and its applicability for enhanced oil recovery. **Journal of Petroleum Exploration and Production Technology**. Indonesia, v.9, p.2279-2289, Feb.2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13202-019-0619-8>.
- BANAT, I. M.; SATPUT, S.K.; CAMEOTRA, S. S.; PATIL, R.; NYAYANIT, N. V. Cost effective technologies and renewable substrates for biosurfactants' production. **Frontiers in Microbiology**. United Kingdom, v.5, 697, p.1–18, Dec.2014. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00697>.
- BARROS, F. F. C.; QUADROS, C. P.; PASTORE, G. M. Propriedades emulsificantes e estabilidade do biossurfactante produzido por *Bacillus subtilis* manipueira. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v.28, n.8, p.979-985, Dec.2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612008000400034>.
- BARROZO, M. A. S.; BOREL, L. D. M. S.; LIRA, T. S.; ATAÍDE, C. H. Fluid dynamics analysis and pyrolysis of brewer's spent grain in a spouted bed reactor. **Particuology**. Uberlândia, v.42, p.199-207 Feb.2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.partic.2018.06.001>.
- BEER SECTOR IN BRAZIL. Flanders Investmen & Trade. Vlaanderen in international ondernemen. p. 35, 2020. Disponível: [www.flandersinvestmentandtrade.com](http://www.flandersinvestmentandtrade.com). Acesso em 15 de dezembro de 2020.
- BENTO, F. M.; CAMARGO, F. A. O.; GAYLARDE, C. C. Biossurfactantes. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. **Microbiologia Ambiental**, 2. ed. Jaguariúna: Embrapa, 2008.
- BONTURI, N.; CRUCCELLO, A.; VIANA, A. J. C.; MIRANDA, E. A. Microbial oil production in sugarcane bagasse hemicellulosic hydrolysate without nutrient supplementation by

*Rhodospiridium turoloides* adapted strain. **Process Biochemistry**. São Paulo, v.57, p.16-25, 16-25, June.2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2017.03.007>.

BUFFINGTON, J. The economic potential of brewer's spent grain (BSG) as biomass feedstock. **Advances in Chemical Engineering and Science**. Sweden, v.4, p.308-318, July.2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.4236/aces.2014.43034>.

CAO, A.; TAN, H. Structural characterization of cellulose with enzymatic treatment. *Journal of Molecular Structure*. China, v.705, n.1, p.189-193, Nov.2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2004.07.010>.

CALDERON, F.; POULIN, P. Progress in understanding emulsion metastability and surface forces. **Current Opinion in Colloid and Interface Science**. France, v.4, n.1, p.223-230, June.1999. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1359-0294\(99\)00038-2](https://doi.org/10.1016/S1359-0294(99)00038-2).

CAMARGO, D.; SENE, L.; VARIZ, D. I. L. S.; FELIPE, M. G. A. Xylitol bioproduction in hemicellulosic hydrolysate obtained from sorghum forage biomass. **Applied Biochemistry and Biotechnology**. Parana, v.175, p.3628-3642, Apr.2015. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12010-015-1531-4>.

CAMARGO, F. P.; ARAUJO, A. C. V.; MORAES, E. M.; SANTOS, A. C. A. A comparison between cactophilic yeast communities isolated from *Cereus hildmannianus* and *Praecereus euchlorus* necrotic cladodes. **Fungal Biology**. São Paulo, v.120, n.10, p.1175–1183, Oct.2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2016.06.003>.

CAMARGO, F. P.; MENEZES, A. J.; TONELLO, P. S.; SANTOS, A. C. A.; DUARTE, I. C. S. Characterization of biosurfactant from yeast using residual soybean oil under acidic conditions and their use in metal removal processes. **FEMS Microbiology Letters**. São Paulo, v.365, n.10, p.1–8, May.2018. DOI: <https://doi.org/10.1093/femsle/fny098>.

CHANDRAN, P.; DAS, N. Characterization of sophorolipid biosurfactant produced by yeast species grown on diesel oil. **International Journal of Science and Nature**. v.2, n.1, p.63–71, 2011. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/311885198\\_Characterization\\_of\\_sophorolipid\\_biosurfactant\\_produced\\_by\\_yeast\\_species\\_grown\\_on\\_diesel\\_oil](https://www.researchgate.net/publication/311885198_Characterization_of_sophorolipid_biosurfactant_produced_by_yeast_species_grown_on_diesel_oil). Acesso em: 29 de Janeiro de 2019.

CHANDEL, A. K.; ANTUNES, F. A.; ANJOS, V.; BELL, M. J. V.; RODRIGUES, L. N.; POLIKARPOV, I.; ZEVEDO, E. R.; BERNARDINELLI, O. D.; ROSA, C. A.; PAGNOCCA, F. C.; SILVA, S. S. Multi-scale structural and chemical analysis of sugarcane bagasse in the process of sequential acid–base pretreatment and ethanol production by *Scheffersomyces shehatae* and *Saccharomyces cerevisiae*. **Biotechnology Biofuels**. São Paulo, v.7, n.63, Apr.2014. DOI: <https://doi.org/10.1186/1754-6834-7-63>.

CHETRARIU, A.; DABIJA, A. Brewer's spent grains: possibilities of valorization, a review. **Applied Sciences**. Romania, v.10, p.1-17, Aug.2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/app10165619>.

CHRISTOVA, N.; TULEVA, B.; KRIL, A.; GEORGIEVA, M.; KONSTANTINOV, S.; TERZIYSKI, I.; NIKOLOVA, B.; STOINEVA, I. Chemical structure and in vitro antitumor activity of rhamnolipids from *Pseudomonas aeruginosa* BN10. **Applied Biochemistry and Biotechnology**. Bulgaria, v.70, p. 676–689, Apr. 2013. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12010-013-0225-z>

COOPER, D. G.; GOLDENBERG, B. G. Surface-active agents from two *Bacillus* species. **Applied and Environmental Microbiology**. Canada, v.53, n.2, p.224-229, Feb.1987. DOI: <https://doi.org/10.1128/aem.53.2.224-229.1987>.

CORREA, H. T.; VIEIRA, W. F.; PINHEIRO, T. M. A.; CARDOSO, V. L.; SILVEIRA, E.; SETTE, L. D.; JUNIOR, A. P.; COUTINHO FILHO, U. L-asparaginase and biosurfactants produced by extremophile yeasts from antarctic environments. **Industrial Biotechnology**. Uberlândia, v.16, n.2, p.107-116, Apr.2020. DOI: <https://doi.org/10.1089/ind.2019.0037>.

DARVISHI, P.; AYATOLLAHI, S.; MOWLA, D.; NIAZI, A. Biosurfactant production under extreme environmental conditions by an efficient microbial consortium, ERCPP1-2. **Colloids and surfaces B: Biointerfaces**. Iran, v.84, n.2, p.292-300, Feb.2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2011.01.011>.

DEEPIKA K. V.; RAGHURAM, M.; BRAMHACHARI, P.V. Rhamnolipid biosurfactant production by *Pseudomonas aeruginosa* strain KVD-HR42 isolated from oil contaminated mangrove sediments. **African Journal of Microbiology Research**. India, v.11, p.218-231, Feb.2017. DOI: <https://doi.org/10.5897/AJMR2015.7881>.

DESAI, J. D.; BANAT, I. M. Microbial Production of surfactants and their commercial potential. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**. India, v.61, n.1, p.47-64, Mar.1997. DOI: <https://doi.org/10.1128/mmbr.61.1.47-64.1997>.

DERGUINE-MECHERI, L.; KEBBOUCHE-GANA, S.; DJENANE, D. Biosurfactant production from newly isolated *Rhodotorula* sp. YBR and its great potential in enhanced removal of hydrocarbons from contaminated soils. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**. Alegria, v.37, n.18, p. 1-18, Jan.2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11274-020-02983-3>

ELSHAFIE, A. E., JOSHI, S. J., AL-WAHAIBI, Y. M., AL-BEMANI, A. S., AL-BAHRY, S. N., AL-MAQBALI, D., BANAT, I. M. Sophorolipids production by *Candida bombicola* ATCC 22214 and its potential application in microbial enhanced oil recovery. **Frontiers in Microbiology**. Oman, v.6, 1324, Nov.2015. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01324>.

FARIQ, A.; YASMIN, A. Microbial Surfactants: Recent Trends and Future Perspectives. In: SHARMA, D.; SAHARAN, B. S. **Microbial Cell Factories**. Boca Raton: Taylor & Francis, CRC Press (2018).

FERREIRA, I. N. S.; RODRÍGUEZ, D. M.; CAMPOS-TAKAKI, G. M.; ANDRADE, R.F.S. Biosurfactant and bioemulsifier as promising molecules produced by *Mucor hiemalis* isolated from Caatinga soil. **Electronic Journal of Biotechnology**. Pernambuco, v.47, p.51–58, Sept.2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2020.06.006>.

FELIPE, M. G. A.; VIEIRA, D. C.; VITOLO, M.; SILVA, S. S.; ROBERTO, I. C.; MANCILHA, I. M. Effect of acetic acid on xylose fermentation to xylitol by *Candida guilliermondii*. **Journal of Basic Microbiology**. São Paulo, v.35, n.3, p.171–177, 1995. DOI: <https://doi.org/10.1002/jobm.3620350309>.

FRANZOL, A.; REZENDE, M. C. Estabilidade de emulsões: um estudo de caso envolvendo emulsionantes aniônico, catiônico e não-iônico. **Polímeros**. São Paulo, v.25, p.1-9, Dez.2015. DOI: <https://doi.org/10.1590/0104-1428.1669>.

FRENGOVA, G. V. I.; BESHKOVA, D. M. Carotenoids from *Rhodotorula* and *Phaffia*: yeasts of biotechnological importance. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**. Bulgarin, v.36, n.2, p.163–180. Feb.2009. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10295-008-0492-9>.

GONULTAS, O.; CANDAN, Z. Chemical characterization and FTIR spectroscopy of thermally compressed eucalyptus wood panels. **Maderas. Ciencia y Tecnología**. Turkey, v.20, n.3, p.431-442, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-221X2018005031301>.

HASSAN, S. S.; RAVINDRAN, R.; JAISWAL, S.; TIWARI, B. K.; WILLIAMS, G. A.; JAISWAL, A. K. An evaluation of sonication pretreatment for enhancing saccharification of brewers' spent grain. **Waste Management**. Ireland, v.105, p.240-247, Mar. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2020.02.012>.

HEJNA, A.; FORMELA, K.; SAEB, M. R. Processing, mechanical and thermal behavior assessments of polycaprolactone/agricultural wastes biocomposites. **Industrial Crops and Products**. Poland, v.76, p.725-733, Dec.2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.07.049>.

IAL. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, ed. 4º, p.1020, 2008.

IBRAHIM, M. L.; IJAH, U. J. J.; MANGA, S. B.; BILBIS, L. S.; UMAR, S. Production and partial characterization of biosurfactant produced by crude oil degrading bacteria. **International Biodeterioration and Biodegradation**. Nigeria, v.81, p.28-34, July.2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2012.11.012>.

IBRAHIM, H. M. M. Characterization of biosurfactants produced by novel strains of *Ochrobactrum anthropi* HM-1 and *Citrobacter freundii* HM-2 from used engine oil-contaminated soil. **Egyptian Journal of Petroleum**. Egypt, v.27, n.1, p.21-29, Mar.2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejpe.2016.12.005>.

ILORI, M. O.; AMOBI, C. J.; ODOCHA, A.C. Factors affecting biosurfactant production by oil degrading *Aeromonas* spp. isolated from a tropical environment. **Chemosphere**. Nigeria, v.61, n.7, p.985-992 .2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.03.066>.

JAIN, R. M.; MODY, K.; MISHRA, A.; JHA, B. Physicochemical characterization of biosurfactant and its potential to remove oil from soil and cotton cloth. **Carbohydrate Polymers**. India, v.89, n.4, p.1110–1116, Aug.2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.03.077>.

JOHNSON, V.; SINGH, M.; SAINI, V. S.; ADHIKARI, D. K.; SISTA, V.; YADAV, N. Bioemulsifier production by an oleaginous yeast *Rhodotorula glutinis* IIP-30. **Biotechnology Letters**. India, v.14, p.487-490 June.1992. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF01023172>.

JOSHI, S. J., DESAI, A. J. Biosurfactant's role in bioremediation of NAPL and fermentative production. In: SEN R. Biosurfactants. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, Springer, New York, 2010.

JOSHI-NAVARE, K.; SINGH, P. K.; PRABHUNE, A. A. New yeast isolate *Pichia caribbica* synthesizes xylolipid biosurfactant with enhanced functionality. **European Journal of Lipid Science and Technology**. India, v.116, n.8, p.1070–1079, Apr.2014. DOI: <https://doi.org/10.1002/ejlt.201300363>.

KARAMEROU, E. E.; THEODOROPOULOS, C.; WEBB, C. A biorefinery approach to microbial oil production from glycerol by *Rhodotorula glutinis*. **Biomass and Bioenergy**. United Kingdom, v.89, p.113–122, June.2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2016.01.007>.

KAWAHARA, H.; HIRAI, A.; MINABE, T.; OBATA, H. Stabilization of astaxanthin by a novel biosurfactant produced by *Rhodotorula mucilaginosa* KUGPP-1. **Biocontrol Science**. Kansai, v.18, n.1, p.21-28, 2013. DOI: <https://doi.org/10.4265/bio.18.21>.

KITAMOTO, D.; AKIBA, S.; HIOK, C.; TABUCHI, T. Extracellular accumulation of mannosylerythritol lipids by a strain of *Candida antarctica*. **Agricultural and Biological Chemistry**. Japan, v.54, n.1, p.31–36, May.1990. DOI: <https://doi.org/10.1080/00021369.1990.10869918>.

KNOBLICH, A.; MATSUMOTO, M.; ISHIGURO, R.; MURATA, K.; FUJIYOSHI, Y.; ISHIGAMI, Y.; OSMAN, M. Electron cryo-microscopic studies on micellar shape and size of surfactin, an anionic lipopeptide. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. Japan, v.5, n.1-2, p.43-48, Sept.1995. DOI: [https://doi.org/10.1016/0927-7765\(95\)01207-Y](https://doi.org/10.1016/0927-7765(95)01207-Y).

KONISHI, M.; YOSHIDA, Y.; HORIUCHI, J-I. Efficient production of sophorolipids by *Starmerella bombicola* using a corncob hydrolysate medium. **Journal of Bioscience and Bioengineering**. Japan, v.119, n.3, p.317–322, Mar.2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2014.08.007>.

KUNZE, W. **Technology brewing and malting**. Berlin, Germany, 2004.

LACA, A.; LACA, A.; DÍAZ, M. Hydrolysis: From cellulose and hemicellulose to simple sugars. In: BASILE, A., DALENA, F. **Second and Third Generation of Feedstocks: The Evolution of Biofuels**. Elsevier, Cambridge 2019.

LATHA, B. V.; JEEVARATNAM, K.; MURALI, H. S.; MANJA, K. S. Influence of growth factors on carotenoid pigmentation of *Rhodotorula glutinis* DFR-PDY from natural source. **Indian Journal of Biotechnology**. India, v.4, p.353–357. July.2005. Disponível em: <chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/viewer.html?pdfurl=http%3A%2F%2Fnopr.nisc.air.res.in%2Fbitstream%2F123456789%2F5743%2F1%2FIJB%25204%25283%2529%2520353-357.pdf&clen=216777>.

LIBKIND, D.; GADANHO, M.; VAN BROOCK, M.; SAMPAIO, J. P. Studies on the heterogeneity of the carotenogenic yeast *Rhodotorula mucilaginosa* from Patagonia, Argentina. **Journal of Basic Microbiology**. Argentina, v.48, n.2, p.93–98. Apr.2008. DOI: <https://doi.org/10.1002/jobm.200700257>.

LINS, A. B. **Produção de bioemulsificante por *Rhodotorula mucilaginosa* UCP 1551 através da bioeconomia circular utilizando substratos renováveis**. 2019. Disponível em: <http://tede2.unicap.br:8080/handle/tede/1211>.

LUFT, L.; CONFORTIN, T. C.; TODERO, I.; SILVA, J. R. F.; TOVAR, L. P.; KUHN, R. C.; JAHN, S. L.; TREICHEL, H.; MAZUTTI, M. A. Ultrasound technology applied to enhance enzymatic hydrolysis of brewer's spent grain and its potential for production of fermentable sugars. **Waste and Biomass Valorization**. Roraima, v.10, p.2157-2164, Feb.2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12649-018-0233-x>.

LUNA, J. M.; RUFINO, R. D.; SARUBBO, L. A.; CAMPOS-TAKAKIA, G. M. Characterisation, surface properties and biological activity of a biosurfactant produced from industrial waste by *Candida sphaerica* UCP0995 for application in the petroleum industry. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. Pernambuco, v.102, p.202–209, Feb.2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2012.08.008>.

LYNCH, K. M.; STEFFEN, E. J.; ARENDT, E. K. Brewers' spent grain: a review with an emphasis on food and health. **Journal of the Institute of Brewing**. Ireland, v.122, n.4, p.553–568, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1002/jib.363>.

MACHEINER, D.; ADAMITSCH, B. F.; KARNER, F.; HAMPEL, W. A. Pretreatment and hydrolysis of brewer's spent grains. **Engineering in Life Sciences**. Austria, v.3, n.10, p.401–405, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1002/elsc.200301831>.

MARCELINO, P. R. F.; PERES, G. F. D.; TERÁN-HILARES, R.; PAGNOCCA, F. C.; ROSA, C. A.; LACERDA, T. M., J. C.; SANTOS, J. C.; SILVA, S. S. Biosurfactants production by yeasts using sugarcane bagasse hemicellulosic hydrolysate as new sustainable alternative for lignocellulosic biorefineries. **Industrial Crops and Products**. São Paulo, v.129, p.212-223. Mar.2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.12.001>.

MARCELINO, P. R. F.; SILVA, V. L.; PHILIPPINI, R. R.; ZUBEN, C. J. V.; CONTIERO, J.; SANTOS, J. C.; SILVA, S. S. Biosurfactants produced by *Scheffersomyces stipitis* cultured in sugarcane bagasse hydrolysate as new green larvicides for the control of *Aedes aegypti*, a vector of neglected tropical diseases. **PLOS ONE**, São Paulo, v.12, n.11, e0187125, Nov.2017. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0187125>.

MARTINEZ, A.; RODRIGUEZ, M. E.; YORK, S. W.; PRESTON, J. F.; INGRAM, L. O. Effects of Ca(OH)<sub>2</sub> treatments (“overliming”) on the composition and toxicity of bagasse hemicellulose hydrolysates. **Biotechnology and Bioengineering**. v.69, n.5, p. 526-536, July.2000. DOI: [https://doi.org/10.1002/1097-0290\(20000905\)69:5<526:AID-BIT7>3.0.CO;2-E](https://doi.org/10.1002/1097-0290(20000905)69:5<526:AID-BIT7>3.0.CO;2-E).

MARTINS DOS SANTOS, D.; BUKZEM, A. L.; ASCHERI, D. P. R.; SIGNINI, R.; AQUINO, G. L. B. Microwave-assisted carboxymethylation of cellulose extracted from brewer's spent grain.

**Carbohydrate Polymers.** Goiás, v.131, p.125-133, Oct.2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.05.051>.

MAX, F. S. Y.; SILVA ANDRADE, R. F.; MARQUES SILVA, A.; RIBEIRO, D. L. R.; JARA, A. M. A. T.; ALENCAR, A. A.; CAMPOS-TAKAKI, G. M.; GUSMÃO, N. B. Biosurfactant production by *Rhodotorula glutinis*: Emulsifying property and stability. In.: MENDEZ-VILAS, A. **Microbes in Applied Research: Advances and Challenges**. Formatex Research Center, Spain 2012. DOI: [https://doi.org/10.1142/9789814405041\\_0072](https://doi.org/10.1142/9789814405041_0072).

MEENA, K.R.; DHIMAN, R.; SINGH, K.; KUMAR, S.; SHARMA, A.; KANWAR, S. S.; MONDAL, R.; DAS, S.; FRANCO, O. L.; MANDAL, A. K. Purification and identification of a surfactin biosurfactant and engine oil degradation by *Bacillus velezensis* KLP2016. **Microbial Cell Factories**. India, v.20, n.26, p.1-12, Jan.2021. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12934-021-01519->

MEYLHEUC, T.; VAN OSS, C. J.; BELLON-FONTAINE, M. N. Adsorption of biosurfactant on solid surfaces and consequences regarding the bioadhesion of *Listeria monocytogenes* LO28. **Journal of Applied Microbiology**. France, v.91, n.5, p.822-832, Nov.2001. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2001.01455.x>.

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**. Natick, v.31, n.3, p.426-428, Mar.1959. DOI: <https://doi.org/10.1021/ac60147a030>.

MOHANTY, S. S.; KOUL, Y.; VARJANI, S.; PANDEY, A.; NGO, H. H.; CHANG, J.-S.; WONG, J. W. C.; BUI, X.-T. A critical review on various feedstocks as sustainable substrates for biosurfactants production: a way towards cleaner production. **Microbial Cell Factories**. v.20, n.120, June.2021. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12934-021-01613-3>.

MORAIS, J. P. S.; ROSA, M. F.; MARCONCINI, J. M. **Procedimentos para análise lignocelulósica**. Embrapa Algodão, Paraíba, p.54, 2010.

MOREIRA, M. M.; MORAIS, S.; BARROS, A. A.; DELERUE-MATOS, C.; GUIDO, L. F. A novel application of microwave-assisted extraction of polyphenols from brewer's spent grain with HPLC-DAD-MS analysis. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**. Portugal, v.403, n.4, p.1019-1029, May.2012. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00216-011-5703-y>.

MORIKAWA, M.; HIRATA, Y.; IMANAKA, T. A study on the structurefunction relationship of lipopeptide biosurfactants. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids**. Japan, v.1488, n.1, p.211-218, Nov.2000. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1388-1981\(00\)00124-4](https://doi.org/10.1016/S1388-1981(00)00124-4).

MUSSATTO, S. I.; DRAGONE, G.; ROBERTO, I.C. Influence of the toxic compounds present in brewer's spent grain hemicellulosic hydrolysate on xylose-to-xylitol bioconversion by *Candida guilliermondii*. **Process Biochemistry**. São Paulo, v.40, n.12, p.3801-3806, Dec.2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.06.024>.

MUSSATTO, S. I.; FERNANDES, M.; MILAGRES, A. M. F.; ROBERTO, I.C. Effect of hemicellulose and lignin on enzymatic hydrolysis of cellulose from brewer's spent grain.

**Enzyme and Microbial Technology.** São Paulo, v.43, n.2, p.124–129, Aug.2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2007.11.006>.

MUSSATTO, S. I.; ROBERTO, I.C. Acid hydrolysis and fermentation of brewer's spent grain to produce xylitol. **Journal of the Science of Food and Agriculture.** São Paulo, v.85, n.14, p.2453-2460, Aug.2005. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.2276>.

MUSSATTO, S. I.; ROBERTO, I.C. Chemical characterization and liberation of pentose sugars from brewer's spent grain. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology.** São Paulo, v.81, n.3, p.268–274, Oct.2006. DOI: <https://doi.org/10.1002/jctb.1374>.

MUSSATTO, S. I.; ROBERTO, I.C. Optimal experimental condition for hemicellulosic hydrolyzate treatment with activated charcoal for xylitol production. **Biotechnology Progress.** São Paulo, v.20, n.1, p.134–139, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1021/bp034207i>.

MUSSATTO, S. I.; DRAGONE, G.; GUIMARÃES, P. M. R.; SILVA, J. P. A.; CARNEIRO, L. M.; ROBERTO, I. C.; VICENTE, A.; DOMINGUES, L.; TEIXEIRA, J. A. Technological trends, global market, and challenges of bio-ethanol production. **Biotechnology Advances.** Portugal, v.28, n.6, p.817-830, Nov-Dec.2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2010.07.001>.

NOGUEIRA FELIX, A. K.; MARTINS, J. J. L.; ALMEIDA, J. G. L.; GIRO, M. E. A.; CAVALCANTE, K. F.; MELO, V. M. M.; PESSOA, O. D. L.; ROCHA, V. P.; GONÇALVES, L. R. B.; AGUIAR, R. S. S. Purification and characterization of a biosurfactant produced by *Bacillus subtilis* in cashew apple juice and its application in the remediation of oil-contaminated soil. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.** Ceará, v.175, p.256–263, Mar.2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.11.062>.

NREL. National Renewable Energies Laboratory. **Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass.** NREL/TP-510-42618. 2008.

OBAYORI, O. S.; ILORI, M. O.; ADEBUSOYE, S. M.; OYETIBO, G. O.; OMOAYO, A. E.; AMUND, O.O. Degradation of hydrocarbons and biosurfactant production by *Pseudomonas* sp. strain LP1. **World Journal of Microbiology and Biotechnology.** Nigeria, v.25, p.1615-1623, May.2009. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11274-009-0053-z>.

ONOFRE, S. B.; BERTOLDO, I. C.; ABATTI, D.; REFOSCO, D. Physicochemical characterization of the brewers' spent grain from a brewery located in the Southwestern Region of Paraná - Brazil. **International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology.** Santa Catarina, v.2, n.9, p.277–280, Sept.2018. DOI: <https://dx.doi.org/10.22161/ijaers.5.9.3>.

ÖZTÜRK, S.; OZBOY, O.; CAVIDOGLU, I.; KOKSEL, H. Effects of brewer's spent grain on the quality and dietary fibre content of cookies. **Journal of the Institute of Brewing.** Turkey, v.108, n.1, p.23–27, May.2012. DOI: <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.2002.tb00116.x>.

PLAZA, P. E.; GALLEGO-MORALES, L. J.; PEÑUELA-VÁSQUEZ, M.; LUCAS, S.; GARCÍA-CUBERO, M. T.; COCA, M. Biobutanol production from brewer's spent grain hydrolysates by *Clostridium beijerinckii*. **Bioresource Technology.** Spain, v.244, Part.1, p.166–174, Nov.2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.07.139>.

PETRIK, S.; MAROVA, I.; HARONIKOVA, A. Production of biomass, carotenoid and other lipid metabolites by several red yeast strains cultivated on waste glycerol from biofuel production – a comparative screening study. **Annals of Microbiology**. Czech Republic, v.63, p.1537-1551, Mar.2013. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13213-013-0617-x>.

POERSCHMANN, J.; WEINER, B.; WEDWITSCHKA, H.; BASKYR, I.; KOEHLER, R.; KOPINKE, K.-D. Characterization of biocoals and dissolved organic matter phases obtained upon hydrothermal carbonization of brewer's spent grain. **Bioresource Technology**. Germany, v.164, p.162-169, July.2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.04.052>.

PRUTHI, V.; CAMEOTRA, S. S. Effect of nutrients on optimal production of biosurfactants by *Pseudomonas putida* - A Gujarat oil field isolate. **Journal of Surfactants and Detergents**. Indian, v.6, p.66-68, Jan.2003. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11743-003-0250-9>.

RAHIMI, K.; LOTFABAD, T. B.; JABEEN, F.; MOHAMMAD GANJI, S. Cytotoxic effects of mono- and di-rhamnolipids from *Pseudomonas aeruginosa* MR01 on MCF-7 human breast cancer cells. **Colloids and surfaces. B, Biointerfaces**. Iran, v.181, p.943–952. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.06.058>.

RAVINDRAN, R.; JAISWAL, S.; ABU-GHANNAM, N.; JAISWAL, A. K. A comparative analysis of pretreatment strategies on the properties and hydrolysis of brewers' spent grain. **Bioresource Technology**. Ireland, v.248, Part.A, p.272–279, Jan.2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.06.039>.

RIBEIRO, I. A.; BRONZE, M. R.; CASTRO, M. F.; RIBEIRO, M. H. L. Optimization and correlation of HPLC-ELSD and HPLC-MS/MS methods for identification and characterization of sophorolipids. **Journal of chromatography. B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**. Portugal, v.899, p.72-80, jun.2012a. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2012.04.037>.

RIBEIRO, D. L. R.; SILVA ANDRADE, R. F.; ANTUNES, A. A.; MARQUES SILVA, A.; MAX, F. S. Y.; CAMPOS-TAKAKI, G. M. Biosurfactant production by *Rhodotorula glutinis* UCP 1555 using industrial wastes. In.: MENDEZ-VILAS, A. **Microbes in Applied Research: Advances and Challenges**. Formatex Research Center, Spain (2012)b. DOI: [https://doi.org/10.1142/9789814405041\\_0011](https://doi.org/10.1142/9789814405041_0011).

RUFINO, R. D.; LUNA, J. M.; TAKAKI, G. M. C.; SARUBBO, L.A. Characterization and properties of the biosurfactant produced by *Candida lipolytica* UCP 0988. **Electronic Journal of Biotechnology**. Pernambuco, v.17, n.1, p.34-38, Jan.2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2013.12.006>.

RUSS, W.; MÖRTEL, H.; MEYER-PITTRUFF, R. Application of spent grains to increase porosity in bricks. **Construction and Building Materials**. Germany, v.19, n.2, Mar.2005, p.117-126. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2004.05.014>.

SANTOS DA SILVA, A. C.; NUNES DOS SANTOS, P.; LIMA E SILVA, T. A.; ANDRADE, R.F.S.; CAMPOS-TAKAKI, G. M. Biosurfactant production by fungi as a sustainable alternative. **Arquivos do Instituto Biológico**. v.85, e0502017, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1590/1808-1657000502017>.

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 Sciences**. Pernambuco, v.17, n.3, p.1-31, Mar.2016. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms17030401>.

SANTOS, D. M.; BUKZEM, A. L.; ASCHERI, D. P. R.; SIGNINI, R.; AQUINO, G.L.B. Microwave-assisted carboxymethylation of cellulose extracted from brewer's spent grain. **Carbohydrate Polymers**. Goiás, v.131, p.125-133, Oct.2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.05.051>.

SEN, S.; BORAH, S. N.; BORA, A.; DEKA, S. Production, characterization, and antifungal activity of a biosurfactant produced by *Rhodotorula babjevae* YS3. **Microbial Cell Factories**. Indian, v.16, n.1, p.1-14, May.2017. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12934-017-0711-z>.

SHARMA, D. **Biosurfactants in Food**. Cham: Springer International Publishing, 2016.

SHRESTHA, S.; KOGNOU, A. L. M.; ZHANG, J.; QIN, W. Different facets of lignocellulosic biomass including pectin and its perspectives. **Waste and Biomass Valorization**. Canada, v.12, p.4805–4823, Nov.2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12649-020-01305-w>.

SILBIR, S.; GOKSUNGUR, Y. Natural red pigment production by *MonascusPurpureus* in submerged fermentation systems using a food industry waste: brewer's spent grain. **Foods**. Turkey, v.8, n.5, 161, May.2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods8050161>.

SOUZA, D. T.; BISPO, A. S. R.; BON, E. P. S.; COELHO, R. R. R.; NASCIMENTO, R.P. Production of thermophilic endo- $\beta$ -1,4-xylanases by *Aspergillus fumigatus* FBSPE-05 using agro-industrial by-products. **Applied Biochemistry and Biotechnology**. Bahia, v.166, p.1575-1585, Mar.2012. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12010-012-9563-5>.

SZAJA, A.; MONTUSIEWICZ, A.; LEBIOCKA, M.; BIS, M. The effect of brewery spent grain application on biogas yields and kinetics in co-digestion with sewage sludge. **PeerJ**. Poland, v.8, e10590, Dec.2020. DOI: <http://doi.org/10.7717/peerj.10590>.

TACER-CABAA, Z.; NILUFER-ERDILA, D.; AI, Y. Chemical composition of cereals and their products. **Handbook of Food Chemistry**. Springer, Berlin, Heidelberg. 2015. DOI: [https://doi.org/10.1007/978-3-642-41609-5\\_33-1](https://doi.org/10.1007/978-3-642-41609-5_33-1).

TAHERZADEH, M. J.; KARIMI, K. Acid-based hydrolysis processes for ethanol from lignocellulosic materials: A review. **BioResources**. Iran, v.2, n.3, p.472–499, 2007. Disponível em: [https://ojs.cnr.ncsu.edu/index.php/BioRes/article/view/BioRes\\_2\\_3\\_472\\_499\\_Taherzadeh\\_K\\_AcidHydrolysis\\_BioEthanol/62](https://ojs.cnr.ncsu.edu/index.php/BioRes/article/view/BioRes_2_3_472_499_Taherzadeh_K_AcidHydrolysis_BioEthanol/62). Acesso em 20 Fevereiro de 2019

TAPPI - Technical Association of Pulp and Paper Industry. **Standart Method T211 om 2. Ash in wood, pulp, paper, and paperboard: combustion at 525°C**. 2002.

TAPPI - Technical Association of Pulp and Paper Industry. **Standart Method T203 cm-99. Alpha-, beta- and gamma-cellulose in pulp**. 1999.

TORRES-MAYANGA, P. C.; AZAMBUJA, S. P. H.; TYUFEKCHIEV, M.; TOMPSETT, G. A.; TIMKO, M. T.; GOLDBECK, R.; ROSTAGNO, M. A.; FORSTER-CARNEIRO, T. Subcritical water hydrolysis of brewer's spent grains: Selective production of hemicellulosic sugars (C-5 sugars). **The Journal of Supercritical Fluids**. São Paulo, v.145, p.19-30, Mar.2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2018.11.019>.

UZOIGWE, C.; BURGESS, J. G.; ENNIS, C. J.; RAHMAN, P. K. Bioemulsifiers are not biosurfactants and require different screening approaches. **Frontiers in Microbiology**, United Kingdom, v.6, n.245. Apr.2015, DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00245>.

VAJZOVIC, A.; BURA, R.; KOHLMEIER, K.; DOTY, S. L. Novel endophytic yeast *Rhodotorula mucilaginosa* strain PTD3 II: production of xylitol and ethanol in the presence of inhibitors. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**. Washington, v.3 9, p.1453–1463, June. 2012. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10295-012-1154-5>.

WANG, M.; MAO, W.; WANG, X.; LI, F.; WANG, J.; CHI, Z.; CHI, Z.; LIU, G. Efficient simultaneous production of extracellular polyol esters of fatty acids and intracellular lipids from inulin by a deep-sea yeast *Rhodotorula paludigena* P4R5. **Microbial Cell Factories**. China, v.18, n.149, p.1-13, Sept.2019. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12934-019-1200-3>.

WILLUMSEN, P. A.; KARLSON, U. Screening of bacteria, isolated from PAH-contaminated soils, for production of biosurfactants and bioemulsifiers. **Biodegradation**. Denmark, v.7, p.415-423, Sept.1996. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00056425>.

XIROS, C.; CHRISTAKOPOULOS, P. Biotechnological potential of brewers spent grain and its recent applications. **Waste and Biomass Valorization**. Greece, v.3, p.213–232, Feb.2012. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12649-012-9108-8>.

XU, F.; YU, J.; TESSO, T.; DOWELL, F.; WANG, D. Qualitative and quantitative analysis of lignocellulosic biomass using infrared techniques: A mini review. **Applied Energy**. Manhattan, v.104, p.801-809, Apr.2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2012.12.019>.

# CAPÍTULO 4

---

## CONCLUSÃO FINAL

- ✓ O BM é uma biomassa com alto teor de umidade e estruturalmente é altamente fibrosa, devido a presença da celulose, hemicelulose e lignina. Os grupos funcionais dessas fibras podem ser identificados via técnica de FT-IR;
- ✓ A hidrólise ácida foi eficiente para obtenção de hidrolisados hemicelulósicos a partir do BM;
- ✓ Os hidrolisados hemicelulósicos do BM são altamente ricos em açúcares fermentáveis, principalmente em xilose, um monossacarídeo pouco explorado como fonte de carbono para produção de biossurfactantes;
- ✓ A produção de biossurfactante a partir de hidrolisados hemicelulósicos ainda é pouco explorada;
- ✓ A levedura oleaginosa possui capacidade de utilizar os açúcares dos hidrolisados para produção de biossurfactantes;
- ✓ Conforme o planejamento experimental, o resultado indicou que a melhor condição de produção de biossurfactante é pH 5,5, temperatura 31 °C e 16,1% de bagaço e 4,0% (v/v) de inóculo;
- ✓ A *R. mucilaginosa* LBP5 apresentou capacidade de metabolizar hexoses, pentoses e subprodutos de degradação da hemicelulose durante o processo de fermentação para produção de biossurfactante. Isso indicou essa levedura tem potencial para ser empregada na produção de surfactantes biológicos;
- ✓ O biossurfactante apresentou capacidade de reduzir a TS e emulsificar substratos hidrofóbicos. Também apresentou estabilidade frente a condições adversas, como temperatura, pH e salinidade;
- ✓ O biossurfactante apresentou natureza aniônica e possivelmente é do tipo de glicolipídios.