

Avaliação do fungo *Penicillium sclerotiorum* UCP 1040 na produção de biossurfactante utilizando óleo pós-fritura e milhocina

Evaluation of the fungus *Penicillium sclerotiorum* UCP 1040 in the production of biosurfactant using post-frying oil and corn steep liquor

Evaluación del hongo *Penicillium sclerotiorum* UCP 1040 en la producción de biosurfactante utilizando aceite post fritura y licor de lavado de maíz

Recebido: 28/02/2022 | Revisado: 17/03/2022 | Aceito: 26/03/2022 | Publicado: 30/03/2022

Elizandro Lima Freitas

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8223-7938>
Universidade Estadual da Paraíba, Brasil
E-mail: elizandrolimaelf@hotmail.com

Sonally de Oliveira Lima

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1254-6812>
Universidade Estadual da Paraíba, Brasil
E-mail: sonally.lima@hotmail.com

Dayana Montero-Rodríguez

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8954-7309>
Universidade Católica de Pernambuco, Brasil
E-mail: dayanamontero87@gmail.com

Rosileide Fontenele da Silva Andrade

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8526-554X>
Universidade Católica de Pernambuco, Brasil
E-mail: rosileide.andrade@unicap.br

Galba Maria de Campos-Takaki

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0519-0849>
Catholic University of Pernambuco, Brazil
E-mail: galba.takaki@unicap.br

Hélvia Walewska Casullo de Araújo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0337-5986>
Universidade Estadual da Paraíba, Brasil
E-mail: hwcasullo@gmail.com

Resumo

O presente trabalho avaliou o potencial biotecnológico do fungo *Penicillium sclerotiorum* UCP 1040, isolado do solo do Estado de Pernambuco, para a produção de biossurfactante utilizando resíduos agroindustriais como fontes alternativas de carbono e nitrogênio. As fermentações foram conduzidas durante 144 h, 28°C e 150 rpm, em meios constituídos por diferentes concentrações de óleo pós-fritura (OPF) e milhocina, de acordo com um planejamento fatorial 2². Os efeitos dos substratos na produção do tensoativo foram avaliados através de análise estatística, utilizando a tensão superficial como variável resposta. As propriedades emulsificantes e dispersantes do biossurfactante foram investigadas pelo índice de emulsificação (IE₂₄) e o teste de dispersão, respectivamente. Os resultados obtidos demonstraram que *P. sclerotiorum* foi capaz de produzir um composto tensoativo na presença dos substratos renováveis, verificando-se a maior redução da tensão superficial (de 72,0 a 42,77 mN/m), na condição 2 do planejamento (meio constituído por 3% de OPF e 5% de milhocina). Embora o biossurfactante produzido nesta condição não tenha mostrado boas propriedades emulsificantes, apresentou excelentes propriedades dispersantes, com área de dispersão de óleo (ADO) de 44,18 cm². O diagrama de Pareto comprovou a influência significativa da interação dos resíduos na produção do biossurfactante, constituindo substratos alternativos e de baixo custo, que tornam o bioprocesso econômico e, portanto, atraente para as diversas indústrias.

Palavras-chave: Surfactante microbiano; Resíduos agroindustriais; Planejamento fatorial; Tensão superficial; Área de dispersão de óleo.

Abstract

The present work evaluated the biotechnological potential of the fungus *Penicillium sclerotiorum* UCP 1040, isolated from the soil of the State of Pernambuco, for the production of biosurfactant using agro-industrial waste as alternative sources of carbon and nitrogen. Fermentations were carried out for 144 h, 28°C and 150 rpm, in media consisting of different concentrations of post-frying oil (PFO) and corn steep liquor (CSL), according to a 2² factorial design. The effects of substrates on surfactant production were evaluated through statistical analysis, using surface tension as

response variable. The emulsifying and dispersing properties of biosurfactant were investigated by emulsification index (IE_{24}) and dispersion test, respectively. The results obtained showed that *P. sclerotiorum* was able to produce a surfactant compound in the presence of renewable substrates, with the greatest reduction in surface tension (from 72.0 to 42.77 mN/m) in condition 2 of the design (medium consisting of 3% PFO and 5% CSL). Although the biosurfactant produced in this condition did not show good emulsifying properties, it exhibited excellent dispersing properties, with oil dispersion area (ODA) of 44.18 cm². The Pareto diagram verified the significant influence of the interaction of wastes in the production of biosurfactant, constituting alternative and low-cost substrates, which make the bioprocess economical and, therefore, attractive for different industries.

Keywords: Microbial surfactant; Agro-industrial waste; Factorial design; Surface tension; Oil dispersion area.

Resumen

El presente trabajo evaluó el potencial biotecnológico del hongo *Penicillium sclerotiorum* UCP 1040, aislado del suelo del Estado de Pernambuco, para la producción de biosurfactante utilizando residuos agroindustriales como fuentes alternativas de carbono y nitrógeno. Las fermentaciones se realizaron durante 144 h, 28°C y 150 rpm, en medios constituidos por diferentes concentraciones de aceite post fritura y licor de lavado de maíz, de acuerdo a un diseño factorial 2². Los efectos de los sustratos en la producción del surfactante se evaluaron mediante análisis estadístico, utilizando la tensión superficial como variable de respuesta. Las propiedades emulsionantes y dispersantes del biosurfactante se investigaron mediante el índice de emulsificación (IE_{24}) y el ensayo de dispersión, respectivamente. Los resultados obtenidos mostraron que *P. sclerotiorum* fue capaz de producir un compuesto tensoactivo en presencia de sustratos renovables, observándose la mayor reducción de la tensión superficial (de 72,0 a 42,77 mN/m) en la condición 2 del diseño (medio compuesto por 3% aceite post fritura y 5% licor de lavado de maíz). Aunque el biosurfactante producido en esta condición no mostró buenas propiedades emulsionantes, demostró excelentes propiedades dispersantes, con un área de dispersión de aceite (ADA) de 44,18 cm². El diagrama de Pareto demostró la influencia significativa de la interacción de los residuos en la producción del biosurfactante, constituyendo sustratos alternativos y de bajo costo, que hacen que el bioproceso sea económico y, por lo tanto, atractivo para diferentes industrias.

Palabras clave: Surfactante microbiano; Residuos agroindustriales; Diseño factorial; Tensión superficial; Área de dispersión de aceite.

1. Introdução

O petróleo e seus derivados trouxeram grandes avanços para a sociedade, modificando principalmente a forma de produção, geração de energia, transporte e possibilitou a descoberta de novas substâncias químicas, que são amplamente usadas em processos industriais (Sousa, et al., 2020). Os surfactantes sintéticos possuem origem do petróleo e compreendem um grupo de moléculas anfifílicas que se particionam nas interfaces de substâncias imiscíveis diminuindo, dessa forma, a tensão superficial entre essas substâncias com polaridades diferentes (Felipe, et al., 2017). Essa característica possibilita uma diversidade de aplicações industriais, seja na remediação de petróleo no solo ou na água, na formulação de medicamentos, de produtos de higiene e itens alimentícios (Santos, 2019).

Entretanto, esses tensoativos sintéticos apresentam efeitos adversos sobre as propriedades estruturais e funcionais das membranas celulares de organismo vivos, prejudicando dessa forma, os ecossistemas marinhos e terrestres, devido a sua toxicidade e recalcitrância (Sena, 2014). Nesse sentido, a legislação ambiental tem buscado desenvolver alternativas eficientes de baixo custo, que gere o menor impacto possível ao meio ambiente (Nitschke & Pastore, 2002). Dentre delas, destaca-se a utilização os biosurfactantes produzidos por bactérias, leveduras e fungos filamentosos, de grande interesse industrial, uma vez que apresentam propriedades emulsificante, detergência, solubilização, dispersão de fases, redução da tensão superficial, entre outras (Sperb, et al., 2015).

Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a capacidade do fungo *Penicillium sclerotiorum* UCP 1040, de produzir biosurfactante utilizando como sustratos alternativos óleo pós-fritura e milhocina.

2. Metodologia

2.1 Microrganismo e preparo do inóculo

O microrganismo utilizado foi o fungo filamentosso *Penicillium sclerotiorum* UCP 1040, isolado do solo do semiárido de Pernambuco e mantido no Coleção de Culturas do Núcleo de Pesquisas em Ciências Ambientais e Biotecnologia (NPCIAMB), da Universidade Católica de Pernambuco (UNICAP), registrada no World Federation for Culture Collection (WFCC). A cultura foi mantida em meio Ágar batata dextrose (BDA) a 5°C. Para o preparo do inóculo, o fungo foi cultivado em placas de Petri contendo BDA a 28°C por 96 h, e após o crescimento, 40 discos do micélio novo foram retirados e utilizados para inocular os meios de produção.

2.2 Resíduos agroindustriais

Na formulação dos meios de produção, foram utilizados os resíduos óleo pós-fritura (OPF), proveniente de uma padaria, localizada na cidade de Barra de Santana – PB, e a milhocina, cedida pela indústria de beneficiamento de milho, localizado na cidade de Cabo de Santo Agostinho-PE.

2.3 Produção de biossurfactante

A produção de biossurfactante foi realizada em frascos Erlenmeyer com capacidade de 250 ml, contendo 100 ml de meio constituído por concentrações diferentes dos resíduos agroindustriais, de acordo com um planejamento fatorial 2². Os meios foram submetidos a esterilização em autoclave e após resfriamento a temperatura ambiente, foram inoculados com 40 discos de *P. sclerotiorum* UCP 1040 cultivado em BDA. A fermentação ocorreu sob agitação de 150 rpm e temperatura de 28°C, durante 144 h. A biomassa produzida foi separada dos líquidos metabólicos por centrifugação a 10.000 rpm por 15 min e em seguida, foi filtrada utilizando nylon silkscreen (120 mesh). Os líquidos metabólicos livres de células foram utilizados para determinar a tensão superficial e o índice de emulsificação, bem como para o ensaio de dispersão de óleo de motor queimado, conforme descrito posteriormente.

2.4 Planejamento fatorial

Com o objetivo de investigar os efeitos das concentrações dos resíduos agroindustriais na produção de biossurfactante, foi utilizado um planejamento fatorial 2², considerando a tensão superficial como variável resposta ou dependente. Cada variável independente foi investigada em três níveis, mínimo (-1), central (0) e máximo (+1), conforme a Tabela 1. Foram realizados 7 ensaios experimentais e os dados obtidos foram analisados pelo software Statistica®, versão 12.0 (StatSoft Inc., USA), testando a significância dos resultados ($p < 0,05$).

Tabela 1 - Variáveis e níveis utilizados no planejamento fatorial 2² para investigar a produção de biossurfactante por *Penicillium sclerotiorum* UCP 1040.

Variáveis	Níveis		
	-1	0	+1
Óleo pós-fritura (% v/v)	1	2	3
Milhocina (% v/v)	5	10	15

Fonte: Autores.

2.5 Determinação da tensão superficial

A tensão superficial dos líquidos metabólicos foi determinada pelo método do peso da gota, utilizando uma bureta graduada de 50 ml suspensa com ajuda de um suporte para a contagem de 20 gotas em um béquer de 100 ml para determinar o

peso e o raio dessa gota e assim, obter o fator de correção correspondente (Behring et al., 2004). A tensão superficial foi calculada pela lei de Tate, através da equação 1:

$$\gamma = \frac{m \cdot g}{2\pi \cdot r \cdot f} = \frac{V \cdot \rho \cdot g}{2\pi \cdot r \cdot f} \quad (\text{eq.1})$$

Esse método é baseado na formação da gota e no momento exato do desprendimento da gota, a força exercida pelo peso da gota ($m \cdot g$) é equilibrada pela tensão superficial (γ) multiplicada pela circunferência ($2\pi \cdot r$) da gota formada. Com isso, a tensão superficial pode ser determinada usando a massa de apenas uma gota do líquido analisado, ou pelo volume da gota e a densidade do líquido (Behring, et al., 2004).

2.6 Determinação do índice de emulsificação (IE₂₄)

O índice de emulsificação (IE₂₄) foi determinado de acordo com a metodologia descrita por Cooper & Goldenberg (1987), utilizando os líquidos metabólicos provenientes dos ensaios do planejamento fatorial e os substratos hidrofóbicos óleo de soja, óleo de coco, OPF e óleo de motor queimado. O teste foi realizado em triplicata em tubos de ensaio contendo 2 ml do líquido metabólico e 1 ml do composto hidrofóbico, que foram agitados em vórtex por 2 min a temperatura ambiente ($\pm 25^\circ\text{C}$). Após 24 h, as emulsões foram visualizadas e o IE₂₄ foi determinado através da equação 2, proposta por Wei et al., (2005):

$$E_{24} = \frac{H_e}{H_t} \times 100 \quad (\text{eq.2})$$

onde: H_e é a altura da emulsão e H_t é a altura total do líquido.

2.7 Teste de dispersão

O teste de dispersão foi realizado utilizando o líquido metabólico da melhor condição do planejamento fatorial (menor valor de tensão superficial). Para isso, 15 ml de água destilada foram transferidos a uma placa de Petri (9,5 cm de diâmetro), seguido da adição de 1 ml de óleo de motor queimado na superfície da camada de água. Em seguida, 100 μl do líquido metabólico foram adicionados no centro do filme de óleo (Youssef, et al., 2004). A capacidade de dispersão do biossurfactante foi comprovada pela dispersão do óleo, resultando na formação de uma zona clara no meio do filme de óleo, cujo diâmetro foi medido. A área de dispersão do óleo (ADO) foi calculada pela equação 3 e expressa em cm^2 .

$$\text{ADO} = \pi \cdot r^2 \quad (\text{eq. 3})$$

3. Resultados e Discussão

3.1 Produção de biossurfactante por *Penicillium sclerotiorum* UCP 1040

Comumente os microrganismos considerados como promissores produtores de biossurfactantes são aqueles que reduzem a tensão superficial do meio a 40 mN/m ou menos. No entanto, diversos estudos destacam que qualquer redução da tensão superficial > 20 mN/m abaixo da tensão superficial da água destilada (72 mN/m) é considerada como "boa" e, portanto, é um biossurfactante promissor (Rahman, et al., 2019). Neste contexto, o fungo *P. sclerotiorum* UCP 1040, mostrou-se capaz de metabolizar a milhocina e o OPF e produzir biossurfactante, reduzindo assim a tensão superficial dos meios testados (Tabela 2).

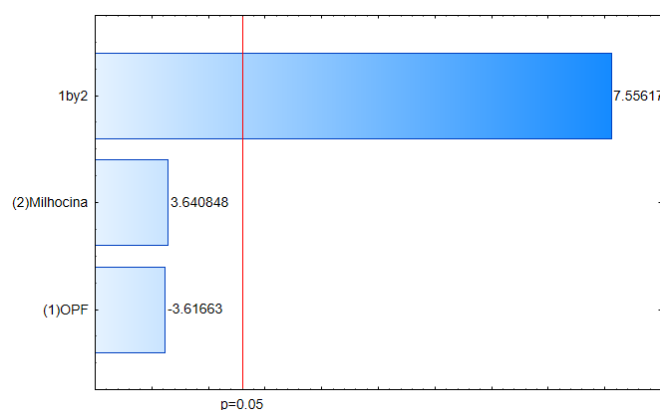
Tabela 2 - Resultados de tensão superficial obtidos por *Penicillium sclerotiorum* UCP 1040 após 144 h de cultivo nos meios de produção constituídos por resíduos agroindustriais, de acordo ao planejamento fatorial 2².

Condições	Óleo pós-fritura	Milhocina	TS (mN/m)
1	-1	-1	56,61
2	+1	-1	42,77
3	-1	+1	51,76
4	+1	+1	56,64
5	0	0	44,56
6	0	0	45,19
7	0	0	46,95

Fonte: Autores.

Tendo como parâmetro inicial a tensão superficial da água (72 mN/m) obtida pela equação 1, a cepa apresentou o melhor resultado na condição 2 do planejamento fatorial 2², no meio constituído por 3% de OPF e 5% de milhocina, reduzindo a tensão a 42,77 mN/m. Anteriormente, alguns pesquisadores relataram a produção de biossurfactantes por fungos representantes do gênero *Penicillium* (Luna-Velasco, et al., 2007; Gautam, et al., 2014; Cicatiello, et al., 2019; Sanches, et al., 2021). Contudo, na maioria desses trabalhos os meios de produção estavam constituídos por fontes convencionais de carbono e nitrogênio (glicose, peptona, extrato de levedura, etc.), o que às vezes torna caro a obtenção destas biomoléculas. Nesse sentido, o reaproveitamento de resíduos agroindustriais (OPF e milhocina) como substratos alternativos pode tornar mais econômico o processo (Andrade, et al., 2018; Mendonça, et al., 2021; Fonseca, et al., 2022). O diagrama de Pareto ilustrado na Figura 1 comprova o efeito significativo da interação do OPF e milhocina na tensão superficial do meio, verificando que ambos os substratos são efetivos para a produção de biossurfactante, como referido previamente na literatura (Marques, et al., 2019; Ferreira, et al., 2020; Cândido, et al., 2022).

Figura 1 - Diagrama de Pareto obtido a partir do planejamento fatorial 2² utilizado para determinar a influência das variáveis independentes óleo pós-fritura (1) e milhocina (2) sobre a tensão superficial, na produção de biossurfactante por *Penicillium sclerotiorum* UCP 1040. O ponto no qual os efeitos estimados são estatisticamente significativos ($p = 0,05$) está indicado pela linha vertical vermelha tracejada.



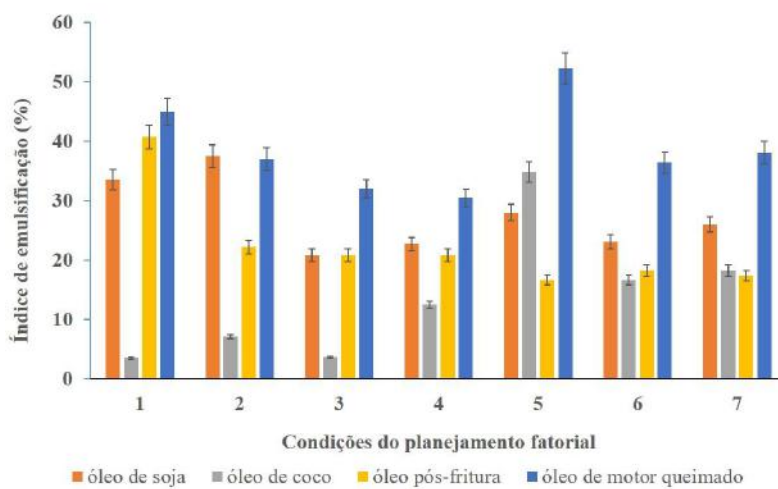
Fonte: Autores.

3.2 Propriedades emulsificantes

A determinação do IE₂₄ tem sido frequentemente utilizada para identificar biossurfactantes que se caracterizam pela sua excelente capacidade de estabilizar emulsões (Andrade, et al., 2018; Pele, et al., 2019; Santiago, et al., 2021). Este método é avaliado pela capacidade de manter pelo menos 50% do volume original da emulsão após 24 horas de formação (Lima, et al.,

2017). Neste contexto, neste trabalho foi determinado o IE₂₄ utilizando o líquido metabólico de todas as condições do planejamento fatorial. Conforme a Figura 2, os melhores resultados foram verificados com o óleo de motor queimado, confirmando que a capacidade de formar emulsões estáveis depende não apenas das propriedades emulsificantes do biossurfactante, senão também do tipo de componente hidrofóbico utilizado no teste. Contudo, apenas na condição 5 obteve-se IE₂₄ acima de 50% (52,2 %), constatando que não são todos os biossurfactantes que possuem boas propriedades emulsificantes (Uzoigwe, et al., 2015; Rahman, et al., 2019).

Figura 2 - Índice de emulsificação obtidos por *Penicillium sclerotiorum* UCP 1040 após 144 h de cultivo nos meios de produção constituídos por resíduos agroindustriais, de acordo ao planejamento fatorial 2².

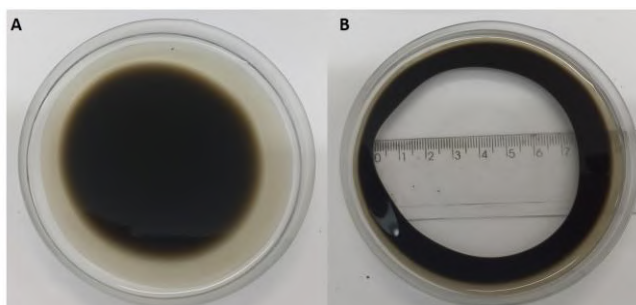


Fonte: Autores.

3.3 Teste de dispersão

O teste de dispersão comumente é utilizado para investigar as propriedades dispersantes de um biossurfactante, onde a ocorrência de uma zona clara no centro do óleo indica a presença de surfactante, e o diâmetro da zona clara está diretamente correlacionado com a atividade tensoativa. Assim, tem-se verificado que existe uma relação linear inversa da ADO com a tensão superficial, pelo que o aumento da dispersão de óleo está correlacionado com a diminuição da tensão superficial (Youssef, et al., 2004; Rahman, et al., 2019). Neste contexto, no presente trabalho realizou-se o teste de dispersão utilizando a condição 2 do planejamento fatorial, uma vez que obteve o menor valor da tensão superficial (42,77 mN/m).

Figura 3 - Teste de dispersão de óleo de motor queimado utilizando biossurfactante produzido por *Penicillium sclerotiorum* UCP 1040. Visualização da placa de Petri contendo água destilada e óleo de motor queimado antes (A) e depois (B) da aplicação do líquido metabólico da condição 2 do planejamento fatorial 2².



Fonte: Autores.

A Figura 3 verificou a capacidade de *P. sclerotiorum* UCP 1040 de produzir um biossurfactante com excelentes propriedades dispersantes, conforme indicado pela zona clara formada na camada de óleo de motor queimado. O valor da ADO obtido foi 44,18 cm², superior aos relatados anteriormente para os biossurfactantes produzidos por *P. esclerotiorum* UCP 1361 (33,15 cm²), *Cunninghamella echinulata* UCP 1299 (32,15 cm²) e *Mucor circinelloides* UCP 0005 (38,62 cm²) (Andrade, et al., 2018; Truan, et al., 2020; Santiago, et al., 2021). Além disso, foi similar ao do detergente comercial (44,2 cm²) (Pele, et al., 2019) e o do SDS (40,6 cm²) (Santiago, et al., 2021), corroborando o potencial de aplicação como agente dispersante, em alternativa aos surfactantes químicos comercializados.

4. Conclusão

Os impactos causados por substâncias hidrofóbicas ao meio ambiente, principalmente o petróleo e seus derivados, prejudicam a manutenção dos ecossistemas aquáticos e terrestres, bem como os produtos químicos usados para remover esses contaminantes, devido a sua recalcitrância e toxicidade. Nesse contexto, o fungo *Penicillium sclerotiorum* UCP 1040 apresentou potencial biotecnológico para a produção de biomolécula tensoativa a partir do reaproveitamento de resíduo agroindustriais. O biossurfactante produzido exibiu excelente dispersão, o que sugere potencial de aplicação no setor ambiental, na limpeza e descontaminação de ambientes impactados com petroderivados.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Núcleo de Pesquisas em Ciências Ambientais e Biotecnologia (NPCIAMB) da Universidade Católica de Pernambuco e às agências de fomento CAPES, FAPESQPB e FACEPE.

Referências

- Andrade, R. F., Silva, T. A., Ribeaux, D. R., Rodriguez, D. M., Souza, A. F., Lima, M. A., ... & Campos-Takaki, G. M. (2018). Promising biosurfactant produced by *Cunninghamella echinulata* UCP 1299 using renewable resources and its application in cotton fabric cleaning process. *Advances in Materials Science and Engineering*, 2018.
- Behring, J. L., Lucas, M., Machado, C., & Barcellos, I. V. (2004). Adaptação no método do peso da gota para determinação da tensão superficial: um método simplificado para a quantificação da cmc de surfactantes no ensino da química. *Quím. Nova*, 27(3), 492-495. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422004000300021>
- Cândido, T. R. S., Mendonça, R. S., Lins, U. M. B. L., Souza, A. F., Rodrigues, D. M., Campos-Takaki, G. M., & Andrade, R. F. S. (2022). Production of biosurfactants by Mucoralean fungi isolated from Caatinga bioma soil using industrial waste as renewable substrates. *Society and Development*. 11(2) <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i2.25332>
- Cicatiello, P., Stanzione, I., Dardano, P., De Stefano, L., Birolo, L., De Chiaro, A., ... & Giardina, P. (2019). Characterization of a surface-active protein extracted from a marine strain of *Penicillium chrysogenum*. *International journal of molecular sciences*, 20(13), 3242.
- Cooper D. G., & Goldenberg, B. G (1987). Surface-active agents from two *Bacillus* species. *Applied and Environmental Microbiology*, 53 (2), 224-229.
- Felipe, L. O., & Dias, S. C. (2017). Surfactantes sintéticos e Biossurfactantes: Vantagens e desvantagens. *Química. nova escola*. – São Paulo-SP, BR, 39(3), 228-236. <http://dx.doi.org/10.21577/0104-8899.20160079>
- Ferreira, I. N. S., Rodríguez, D. M., Campos-Takaki, G. M., & da Silva Andrade, R. F. (2020). Biosurfactant and bioemulsifier as promising molecules produced by *Mucor hiemalis* isolated from Caatinga soil. *Electronic Journal of Biotechnology*, 47, 51-58.
- Fonseca, T. C. S., de Souza, A. F., dos Santos, P. N., da Silva, P. H., Rodríguez, D. M., Costa, L. O., & Campos-Takaki, G. M. (2022). Sustainable production of biosurfactant by *Issatchenkia orientalis* UCP 1603 using renewable substrates. *Research, Society and Development*, 11(4), e16111427174-e16111427174.
- Gautam, G., Mishra, V., Verma, P., Pandey, A. K., & Negi, S. (2014). A cost effective strategy for production of bio-surfactant from locally isolated *Penicillium chrysogenum* SNP5 and its applications. *Journal of Bioprocessing & Biotechniques*, 4(6), 1.
- Lima, R. A., Andrade, R. F., Rodríguez, D. M., Araujo, H. W., Santos, V. P., & Campos-Takaki, G. M. (2017). Production and characterization of biosurfactant isolated from *Candida glabrata* using renewable substrates. *African journal of microbiology research*, 11(6), 237-244.
- Luna-Velasco, M. A., Esparza-García, F., Cañizares-Villanueva, R. O., & Rodríguez-Vázquez, R. (2007). Production and properties of a bioemulsifier synthesized by phenanthrene-degrading *Penicillium* sp. *Process Biochemistry*, 42(3), 310-314.
- Marques, N. S. A.A., de Lima, T. A., da Silva Andrade, R. F., Júnior, J. F. B., Okada, K., & Takaki, G. M. C. (2019). Lipopeptide biosurfactant produced by *Mucor circinelloides* UCP/WFCC 0001 applied in the removal of crude oil and engine oil from soil. *Acta Scientiarum. Technology*, 41, e38986-e38986.

Mendonça, R. S., Sá, A. V. P., Rosendo, L. A., dos Santos, R. A., do Amaral Marques, N. S. A., Souza, A. F., . . . & de Campos Takaki, G. M. (2021). Produção de biosurfactante e lipídeos por uma nova cepa de *Absidia cylindrospora* UCP 1301 isolada do solo da Caatinga usando subprodutos agroindustriais de baixo custo. *Brazilian Journal of Development*, 7(1), 8300-8313.

Nitscke, M., & Pastore, G. (2002). Biosurfactantes: propriedades e aplicações. *Química nova*, 25(5), 772-774. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422002000500013>

Pele, M. A., Ribeaux, D. R., Vieira, E. R., Souza, A. F., Luna, M. A., Rodríguez, D. M., ... & Campos-Takaki, G. M. (2019). 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*, 38, 40-48.

Sanches, M. A., Luzeiro, I. G., Cortez, A. C. A., De Sousa, E. S., Albuquerque, P. M., Chopra, H. K., & De Souza, J. V. B. (2021). Production of biosurfactants by Ascomycetes. *International Journal of Microbiology*. doi.org/10.1155/2021/6669263

Santiago, M. G., Lins, U. M. D. B. L., de Campos Takaki, G. M., da Costa Filho, L. O., & da Silva Andrade, R. F. (2021). Produção de biosurfactante por *Mucor circinelloides* UCP 0005 usando novo meio de cultura formulado com cascas de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) e milhocina. *Brazilian Journal of Development*, 7(5), 51292-51304.

Santos, S. F. M., Melo, A. L. M., Lima, A. O., Pereira, L. M. S., Santos, F. A., Medeiros, N. M., & Silva, M. G. B. (2018). Avaliação da produção de biosurfactante a partir de diferentes fontes de carbono por *Candida guilliermondii*. *Revista saúde e Ciência online*, 7(2), 413-425. <https://doi.org/10.35572/rsc.v7i2.126>

Santos, S. C. dos. (2022). Biosurfactantes: potenciais agentes biorremediadores. *Cadernos De Prospecção*, 12(5), 1531. <https://doi.org/10.9771/cp.v12i5.33191>

Sena, H. H. (2014). Produção de biosurfactante por fungos isolados do solo Amazônico. Dissertação (mestrado). Curso de Ciências farmacêutica. *Universidade Federal do Amazonas*, <https://tede.ufam.edu.br/handle/tede/4706>

Sperb, J. G. D., Costa, T. M., Vaz, D. A., Valle, J. A. B., Valle, R. C. S. C., Tavares, L. B. B. (2015). Avaliação qualitativa da produção de lipases e biosurfactantes por fungos isolados de resíduos oleosos. *Engevista*, 17(3), 385-397. <https://doi.org/10.22409/engevista.v17i3>

Rahman, P. K., Mayat, A., Harvey, J. G. H., Randhawa, K. S., Relph, L. E., & Armstrong, M. C. (2019). Biosurfactants and bioemulsifiers from marine algae. In *The Role of Microalgae in Wastewater Treatment* (pp. 169-188). Springer, Singapore.

Truan, L., Marques, N., Souza, A., Rubio-Ribeaux, D., Cine, A., Andrade, R., ... & Takaki, G. (2020). Sustainable biotransformation of barley and milk whey for biosurfactant production by *Penicillium sclerotiorum* UCP 1361. *Chemical Engineering Transactions*, 79, 259-264.

Uzoigwe, C., Burgess, J. G., Ennis, C. J., & Rahman, P. K. (2015). Bioemulsifiers are not biosurfactants and require different screening approaches. *Frontiers in microbiology*, 6, 245.

Velioglu, Z., & Urek, R.O. (2015). "Biosurfactant production by *Pleurotus ostreatus* in submerged and solid-state fermentation systems", *Turkish Journal of Biology*, 39(1), 160-166. <https://doi.org/10.3906/biy-1406-44>

Wei, Y., Chou, C. & Chang, J. (2005). Rhamnolipid production by indigenous *Pseudomonas aeruginosa* originating from petrochemical wastewater. *Biochemical Engineering Journal*, 27, 146-54. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bej.2005.08.028>

Youssef, N. H., Duncan, K. E., Nagle, D. P., Savage, K. N., Knapp, R. M., & McInerney, M. J. (2004). Comparison of methods to detect biosurfactant production by diverse microorganisms. *Journal of microbiological methods*, 56(3), 339-347. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2003.11.001>