Produção de biossurfactante por *Mucor circinelloides* UCP 0005 usando novo meio de cultura formulado com cascas de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) e milhocina

Biosurfactant production by *Mucor circinelloides* UCP 0005 using new culture medium formulated with jatoba (*Hymenaea courbaril* L.) bark and corn steep liquor

DOI:10.34117/bjdv7n5-497

Recebimento dos originais: 21/04/2021
Aceitação para publicação: 21/05/2021

Murilo Guerra Santiago
Graduando em Ciências Biológicas,
Universidade Católica de Pernambuco
Endereço: Rua do Príncipe, 526 - Boa Vista, Recife - PE, 50050-900
E-mail: murilogsantiago@hotmail.com

Uiara Maria de Barros Lira Lins
Mestre em Desenvolvimento de Processos Ambientais
Universidade Católica de Pernambuco
Endereço: Rua do Príncipe, 526 - Boa Vista, Recife - PE, 50050-900
E-mail: uiara_maria@hotmail.com

Galba Maria de Campos Takaki
Doutora em Microbiologia e Imunologia
Professora, Universidade Católica de Pernambuco
Núcleo de Pesquisas em Ciências Ambientais e Biotecnologia,Universidade Católica de Pernambuco
Endereço: Rua do Príncipe, 526 - Boa Vista, 50050590 Recife – PE.
E-mail: galba_takaki@yahoo.com.br

Luiz Oliveira da Costa Filho
Doutor em Biologia vegetal
Professor, Universidade Católica de Pernambuco
Endereço: Rua do Príncipe, 526 - Boa Vista, 50050-900 Recife - PE
E-mail: luiz.costa@unicap.br

Rosileide Fontenele da Silva Andrade
Doutora em Ciências Biológicas
Professora, Universidade Católica de Pernambuco
Núcleo de Pesquisas em Ciências Ambientais e Biotecnologia,Universidade Católica de Pernambuco
Endereço: Rua do Príncipe, 526 - Boa Vista, 50050590 Recife – PE.
E-mail: rosileide.andrade@unicap.br

RESUMO

Os biossurfactantes são compostos com estrutura molecular anfifílica sintetizado principalmente por micro-organismos. Atualmente, as indústrias que utilizam surfactantes químicos são encorajadas a utilizar biossurfactantes pela possibilidade de obtenção a partir de fontes renováveis. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi formular um novo meio de cultura com fontes renováveis para produção de biossurfactante pelo fungo *Mucor circinelloides* UCP 0005. Para tanto, foi realizado o cultivo do fungo em meio constituído por cascas de jatobá e milhocina. O experimento foi realizado de acordo com concentrações estabelecidas pelo planejamento fatorial de 2^2 utilizando como variável resposta a tensão superficial. A determinação da capacidade emulsificante e a capacidade dispersante também foram investigadas. Os resultados mostraram que a máxima produção de biossurfactante ocorreu na condição do ponto central do planejamento fatorial (meio de cultura constituído por 10% das cascas de jatobá e 1% de milhocina). A tensão superficial nesta condição resultou em valores em torno de 33-34mN/m. A análise estatística comprovou a influência significativa das cascas de jatobá na produção do biossurfactante, assim como na capacidade emulsificante após a metabolização dos substratos alternativos. A partir dos dados obtidos neste estudo foi possível formular um novo meio de cultura para produção de biossurfactante utilizando um bioprocesso econômico e sustentável. Além disso, este é o primeiro trabalho com a produção de biossurfactante por micro-organismos utilizando meio de cultura formulado com cascas de jatobá.

Palavras-Chaves: Fungo filamentoso, tensoativo, planejamento fatorial, fontes renováveis.

ABSTRACT

Biosurfactants are compounds with amphiphilic molecular structure synthesized mainly by microorganisms. Currently, industries that use chemical surfactants are encouraged the use biosurfactants due the possibility of utilization of renewable sources. In this context, the objective this work was the formulation of new culture medium with renewable sources for the production of biosurfactant by *Mucor circinelloides* UCP 0005. For this purpose, the cultivation of fungus was carried out in medium containing jatoba bark and corn steep liquor. The experiment was performed according to concentrations established by factorial design of 2^2 using surface tension as response variable. The determination of emulsifying capacity and the dispersing capacity were also investigated. The results showed that the maximum production of biosurfactant occurred in central point of the factorial design (culture medium constituted by 10% of jatoba bark and 1% of corn steep liquor). The surface tension in this condition resulted in values around 33-34mN/m. The statistical analysis proved the significant influence of jatoba bark in production of the biosurfactant, as well as the emulsifying capacity after the metabolization of the alternative substrates. From the data obtained in this study was possible formulate a new culture medium for production of biosurfactant using economical and sustainable bioprocess. In addition, this is the first work with the production of biosurfactant by microorganisms using culture medium formulated with jatoba bark.

Keywords: Filamentous Fungi, Tensoactive, Renewable Sources, Factorial Design.

1 INTRODUÇÃO

Biossurfactantes, também conhecidos como biotensoativos, podem ser sintetizados por diferentes micro-organismos. Estes compostos possuem a capacidade de reduzir a tensão superficial e interfacial de substâncias com diferentes polaridades e são objeto de intensa investigação por apresentarem diversidade estrutural e potencial de uso como matéria-prima em diversos produtos industriais (ANDRADE et al., 2018; FERREIRA et al., 2020; JAHAN et al., 2020).

Os biotensoativos produzidos por micro-organismos são conhecidos como agentes multifuncionais devido à vasta aplicabilidade como emulsificante, umectante, solubilizante, agente inibidor da corrosão, agente redutor da viscosidade, agente antimicrobiano, estabilizante e antiadesivo (AKBARI et al., 2018; ROY, 2018).

Uma das principais vantagens dos biossurfactantes é seu possível uso como substituto aos surfactantes químicos atualmente comercializados devido a baixa toxicidade, alta biodegradabilidade estabilidade em ampla faixa de pH, salinidade e temperatura. Tais características tornam-os viáveis para aplicações na petroquímica, indústrias ambientais, farmacêuticas, alimentícias, agrícolas, entre outros (REIS et al., 2018; DE SOUZA MENDONÇA et al., 2021).

Embora apresentem aplicações industriais promissoras, a produção em larga escala dos biossurfactantes ainda é limitada devido ao alto custo de produção, causado principalmente pelo elevado valor dos constituintes dos meios de cultura convencionais. Nesse contexto, resíduos agroindustriais podem ser utilizados como substratos alternativos para garantir um processo produtivo, econômico e sustentável (CHATURVEDI et al., 2019; RIVERA; URBINA; LÓPEZ, 2019).

Os substratos alternativos podem fornecer os nutrientes necessários para crescimento e produção de metabólitos por micro-organismos, além de favorecer a obtenção de bioprodutos de valor industrial (NEMA et al., 2019; MARCELINO et al., 2020).

Especial atenção vem sendo dada para ao reaproveitamento de resíduos sólidos como substratos alternativos para obtenção de bioprodutos por micro-organismos. Desta forma, os resíduos provenientes dos alimentos envolvem quantidades apreciáveis de cascas, sementes, dentre outros (COELHO et al., 2001).

O jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) é uma espécie arbórea que no Brasil encontra-se nos estados do Amazonas, Pará, Maranhão, Rondônia, Goiás, Bahia, São Paulo, Distrito Federal e Pernambuco. Essa planta possui boa tolerância e adaptações a diferentes

ambientes, além de ser rica nutricionalmente em fibras, carboidratos e terpenóides responsáveis pelo seu potencial bioativo (antioxidante, anti-inflamatório, anti-fúngico e miorrelaxante) (BEZERRA et al., 2013; CAMPOS; ALBUQUERQUE, 2021).

A elevada quantidade de cascas presentes nos frutos do jatobá torna o seu reaproveitamento viável, assim como a sua utilização como matéria-prima na produção de metabólitos secundários por micro-organismos, considerando o elevado teor de carboidratos (47,35%) presentes nas cascas (DA SILVA et al., 2020).

Vários são os estudos relacionados à produção de biossurfactante por fungos filamentosos utilizando fontes alternativas de produção (SILVA et al., 2014; LINS et al., 2017; ANDRADE et al., 2018; DE SOUZA et al., 2018; PELE et al., 2018). Porém, com a utilização das cascas de jatobá para produção de biossurfactantes ainda não existe relato.

Portanto, este trabalho é pioneiro no uso de cascas de jatobá como componente de um novo meio de cultura para produção de biossurfactante. Em adição, esta é uma estratégia biotecnológica importante que contribui com a redução dos custos de produção desta biomolécula a nível industrial e com a preservação ambiental. É também uma estratégia que favorece a competição do biossurfactante com os surfactantes químicos atualmente comercializados.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 MICRO-ORGANISMO

O micro-organismo utilizado foi *Mucor circinelloides* UCP 0005 obtido do banco de culturas do Núcleo de Pesquisas em Ciências Ambientais e Biotecnologia - NPCIAMB - Universidade Católica de Pernambuco, Recife-PE, Brasil, com registro World Federation for Culture Collection (WFCC).

2.2 COMPONENTES DO MEIO DE PRODUÇÃO

O jatobá foi coletado no Vale do Catimbau (PE, Brasil) e a sua casca foi utilizada como fonte nutricional para *Mucor circinelloides*, enquanto a milhocina foi cedida gentilmente pela indústria Corn Products de beneficiamento de milho.

2.3 PROCESSAMENTO DAS CASCAS DE JATOBÁ

As cascas de jatobá foram lavadas em água corrente, desidratadas em estufa durante 24h e em seguida trituradas. Posteriormente, as cascas já desidratadas foram tamisadas em peneira de 32 mesh.

2.4 INÓCULO

A cultura de *M. circinelloides* foi transferida para placas de meio ágar Sabouraud e incubadas por 96h à 28°C. Em seguida, uma suspensão de esporos (10^7 esporos/mL) foi realizada com água destilada e utilizada como inóculo no meio de produção.

2.5 FORMULAÇÃO DO MEIO DE PRODUÇÃO

Para a formulação do meio de produção foram utilizadas as cascas de jatobá e a milhocina. As concentrações dos componentes do meio de produção foram determinadas conforme planejamento fatorial de 2^2 (item 2.7).

2.6 PRODUÇÃO DE BIOSSURFACTANTE

A produção do biossurfactante foi realizada em Erlenmeyers de 250 mL de capacidade contendo 100 mL de meio alternativo com diferentes concentrações das cascas de jatobá, de acordo com planejamento fatorial 2^2 (Tabela 1). O pH do meio de produção foi ajustado para 5,5 e esterilizado a 121ºC por 15 min. Em seguida, 5% (V/V) da suspensão de esporos (10^7 esporos/mL) foi inoculado em cada frasco contendo o meio alternativo de produção e os frascos foram mantidos sob agitação orbital a 150 rpm, a 28ºC, durante 96 h. A biomassa e o líquido metabólico foram utilizados para determinação da tensão superficial, índice de emulsificação (IE24) e capacidade de dispersante.

2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O planejamento experimental do tipo fatorial 2^2 (Tabela 1) foi realizado para avaliar a influência das concentrações das cascas de jatobá e da milhocina na produção de biossurfactante. A análise estatística dos dados do planejamento foram realizadas utilizando o pacote de software STATISTICA versão 8.0 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA).

Tabela 1. Fatores e níveis do planejamento fatorial 2^2 para produção de biossurfactante por *Mucor circinelloides* em meio contendo substratos alternativos

FATORES	**NÍVEIS**		
	(-1)	**(0)**	**(+1)**
Cascas de jatobá (%)	8	10	12
Milhocina (%)	0	1	2

2.8 DETERMINAÇÃO DO PH

A medição do pH do meio de produção foi realizada utilizado o potenciômetro Orion (modelo 310) antes e após o cultivo de *Mucor circinelloides* UCP 0005

2.9 DETERMINAÇÃO DA TENSÃO SUPERFICIAL- TS

A ocorrência da produção de biossurfactante foi detectada pela medição da tensão superficial no líquido metabólico livre de células. A medição foi realizada em tensiômetro automático (modelo Sigma 70-KSV Ltd., Finland) utilizando-se o anel de DU NUOY (KUYUKINA et al., 2001).

2.10 DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE DE EMULSIFICAÇÃO- IE24

A determinação do índice de emulsificação foi realizada em todas as condições do planejamento fatorial 2^2 utilizando dois substratos hidrofóbicos (óleo de motor queimado e óleo de soja pós-fritura). Seguindo o método de Cooper; Goldenberg (1987) foi adicionado em tubos graduados 1,0 mL do líquido metabólico livre de células e 1,0 mL dos substratos hidrofóbicos. A mistura foi agitada em vórtex por um minuto e após 24 horas de repouso, as emulsões formadas foram medidas e calculadas e o resultado foi expresso em porcentagem.

2.11 TESTE DE DISPERSÃO DE ÓLEO EM ÁGUA

O potencial do biossurfactante como agente dispersante de óleo de motor queimado em água foi avaliado. Em placa de Petri foi adicionado 40mL de água destilada, 1mL de óleo queimado de motor automotivo e 0,5mL do sobrenadante contendo o biossurfactante produzido. O surfactante químico foi usado como controle positivo de dispersão.

O cálculo foi realizado considerando a área de deslocamento de óleo (ADO) de acordo com a equação (1) (PELE et al., 2018):

$$\text{(Eq. 1) ADO} = 3.14 \times r^2$$

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 PRODUÇÃO DE BIOSSURFACTANTE POR *MUCOR CIRCINELLOIDES* USANDO CASCAS DE JATOBÁ E MILHOCINA COMO SUBSTRATOS ALTERNATIVOS

Neste estudo, dois substratos de origem renovável (cascas de jatobá e milhocina) foram usados como componentes do meio de cultura para produção de biossurfactante por *Mucor circinelloides*.

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 2, o *M. circinelloides* foi capaz de metabolizar os nutrientes das cascas de jatobá (fontes de carbono) e a milhocina (fontes de nitrogênio) para produzir biossurfactante (Tensão superficial-34 mN/m) na condição do ponto central do planejamento fatorial. Nesta condição do planejamento o meio de cultura possui em sua composição 10% de cascas de jatobá e 1% de milhocina.

Valores similares de tensão superficial foram obtidos por *Rhizopus arrihizus* var. *arrhizus* UCP 1295 (35 mN/m) e *R. microsporus* var. *microsporus* UCP 1304 (34,7 mN/m) cultivados em meio de produção alternativo (PELE et al., 2018), assim como por Andrade-Silva et al., (2014) após o cultivo de *Cunninghmalla echinulata* em meio contendo resíduo de óleo de soja e milhocina. Portanto, os resultados obtidos neste estudo comprovam que *Mucor circinelloides* UCP 0005 é um micro-organismo promissor para produção de biossurfactante.

A partir dos resultados da tensão superficial, obtidos na condição selecionada do planejamento fatorial, é possível concluir que o biossurfactante de *Mucor circinelloides* UCP 0005 é mais eficaz em reduzir a tensão superficial (34 mN/m) do que o surfactante químico (37 mN/m) atualmente comercializado em diversos produtos industriais (Dodecil sulfato de sódio) (CHRISTOFI; IVSHINA, 2002).

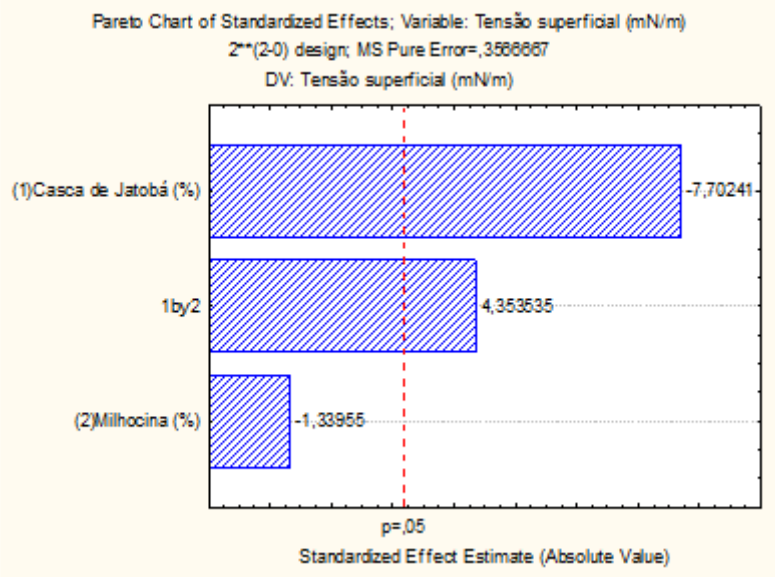
Adicionalmente, o reaproveitamento das cascas do jatobá e da milhocina esta ligado as políticas de preservação ambiental e a sustentabilidade por ser esta uma estratégia biotecnológica promissora para obtenção de bioprodutos de elevado valor industrial.

Tabela2- Produção de biossurfactante por *Mucor circinelloides* após cultivo em meio contendo cascas de jatobá e milhocina avaliado pela determinação da tensão superficial

Condições	Cascas de Jatobá (%)	Milhocina (%)	Tensão superficial (mN/m)
1	8	0	45,7
2	12	0	38,5
3	8	2	42,3
4	12	2	40,3
5	10	1	34,4
6	10	1	33,0
7	10	1	34,0
8	10	1	34,2

De acordo com o Diagrama de Pareto, com nível de confiança de 95%, a variável independente cascas de jatobá, assim como a associação entre a cascas de jatobá com a milhocina foram significativas estatisticamente para produção do biossurfactante. Porém, a variável independente cascas de jatobá foi a única que atuou efetivamente na redução da tensão superficial favorecendo a máxima produção do biossurfactante por *Mucor circinelloides* (Figura 1).

Figura 1- Avaliação estatística da produção de biossurfactante por Mucor circinelloides utilizando o Diagrama de Pareto

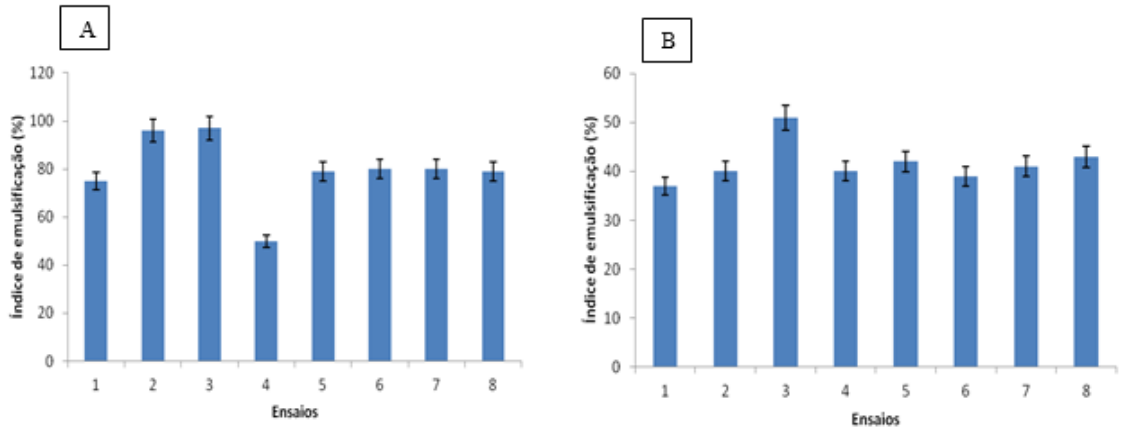


3.2 CAPACIDADE EMULSIFICANTE DO BIOSSURFACTANTE DE *MUCOR CIRCINELLOIDES*

A capacidade de formação de emulsão por um composto tensoativo é avaliada a partir do seu potencial em manter estável a emulsão com valores acima 50% do índice de emulsificação (IE) após 24 horas de sua formação (PELE et al., 2018).

De acordo com este critério, nas condições estabelecidas pelo planejamento fatorial, foi investigado a capacidade de emulsificação dos biossurfactantes produzidos utilizando óleo de soja pós-fritura e óleo queimado de motor como substratos hidrofóbicos na emulsificação. A partir dos dados obtidos para o substrato óleo de soja pós-fritura, *Mucor circinelloides* demonstrou capacidade de emulsificar IE 98% do óleo de motor queimado na condição 2 do planejamento, no meio formulado apenas com cascas de jatobá (12%). Adicionalmente, na condição 3 do planejamento o índice de emulsificação correspondeu a IE 94% no meio contendo cascas de jatobá (8%) e milhocina (2%) (Figura 2).

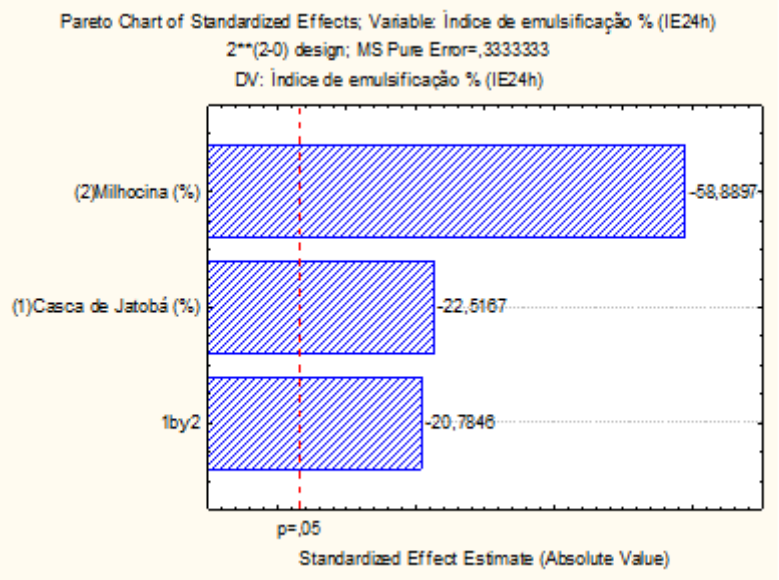
Figura 2- Estabilidade do biossurfactante de *Mucor circinelloides* avaliado nas condições estabelecidas pelo planejamento fatorial utilizando diferentes substratos hidrofóbicos para emulsificação: (A) Índice de emulsificação com óleo de soja pós-fritura e (B) Índice de emulsificação com óleo de motor queimado



De acordo com o Diagrama de Pareto para avaliação dos efeitos sobre a capacidade emulsificante foi possível observar que todas as variáveis independents foram significativas do ponto de vista estatístico com nível de confiança de 95% (Figura 4).

Segundo Pele et al. (2019), o fungo filamentoso *Rhizopus arrhizus* UCP 1607 apresentou efeitos semelhantes utilizando glicerol bruto e milhocina como substratos agroindustriais para produção de bioemulsificante. De acordo com Silva et al., (2018) e Rulli et al., (2019), o aproveitamento de substratos renováveis para produção torna-se uma estratégia promissora, considerando que a produção biotecnológica dessas biomoléculas são dependentes de processos econômicos.

Figura 4- Avaliação estatística da capacidade emulsificante do biossurfactante de *Mucor circinelloides* utilizando o Diagrama de Pareto



3.3 POTENCIAL DO BIOSSURFACTANTE DE *MUCOR CIRCINELLOIDES* UCP 0005 NA DISPERSÃO DE ÓLEO DE MOTOR QUEIMADO

A capacidade de deslocamento de óleo é um teste rápido usado para indicar o potencial do micro-organismo em produzir biossurfactante, assim como para indicar o potencial do biossurfactante agir como agente dispersante (PELE et al., 2019). Neste sentido, foi investigado em todas as condições do planejamento fatorial, o potencial do biossurfactante atuar como agente dispersante do óleo de motor queimado.

De acordo com a Tabela 3, pode-se observar que o máximo deslocamento do óleo pelo biossurfactante de *Mucor circinelloides* ocorreu na condição do ponto central do planejamento fatorial com valores de dispersão em torno de 37-38cm^2 ADO. Por outro lado, o teste de dispersão usando surfactante químico dodecil sulfato de sódio resultou em deslocamento de 40,6 cm^2 ADO. Portanto, os dados obtidos neste estudo indicam que o biossurfactante produzido por *Mucor circinelloides* UCP 0005 possui similar potencial quando comparado ao surfactante químico.

Tabela 3- Área de deslocamento de óleo do biossurfactante produzido por *Mucor circinelloides* UCP 0005

Condições	Cascas de Jatobá (%)	Milhocina (%)	Área de deslocamento de óleo – ADO (cm^2)
1	8	0	-
2	12	0	9,42
3	8	2	-
4	12	2	9,32
5	10	1	38,46
6	10	1	38,00
7	10	1	37,98
8	10	1	38,62

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este é o primeiro estudo realizado com a casca de jatobá para produção de biossurfactante por *Mucor circinelloides* UCP 0005. Portanto, a partir dos dados obtidos neste trabalho, foi possível formular um novo meio de cultura utilizando as cascas de jatobá e a milhocina como fontes renováveis. Adicionalmente, foi observado que o biossurfactante produzido possui potencial de aplicação em processos de biorremediação.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao suporte financeiro da FACEPE (APQ.0291-2.12/15), da CAPES e do CNPq (Processo No. 314422/2018-8).

REFERÊNCIAS

AKBARI, S. et al. Biosurfactants- a new frontier for social and environmental safety: a mini review. Biotechnology Research and Innovation, v. 2, n. 1, p. 81–90, 1 jan. 2018.

ANDRADE, R. F. et al. 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.

ANDRADE SILVA, N. R. et al. Biosurfactant-and-Bioemulsifier Produced by a Promising *Cunninghamella echinulata* Isolated from Caatinga Soil in the Northeast of Brazil. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 9, p. 15377–15395, set. 2014.

BEZERRA, G. P. et al. Phytochemical study guided by the myorelaxant activity of the crude extract, fractions and constituent from stem bark of *Hymenaea courbaril* L. **Journal of ethnopharmacology**, v. 149, n. 1, p. 62–69, 2013.

CAMPOS, J. L. A.; ALBUQUERQUE, U. P. Indicators of conservation priorities for medicinal plants from seasonal dry forests of northeastern Brazil. **Ecological Indicators**, v. 121, p. 106993, 2021.

CHATURVEDI, S. et al. Valorization of agro-starchy wastes as substrates for oleaginous microbes. **Biomass and Bioenergy**, v. 127, p. 105294, 2019.

CHRISTOFI, N.; IVSHINA, I. B. Microbial surfactants and their use in field studies of soil remediation. **Journal of Applied Microbiology**, v. 93, n. 6, p. 915–929, 2002.

COELHO, M. A. Z. et al. Aproveitamento de resíduos agroindustriais: produção de enzimas a partir da casca de coco verde. **Embrapa Agroindústria de Alimentos-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2001.

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

DA SILVA, E. F. et al. Caracterização física, físico-química e centesimal do fruto de jatobá-do-cerrado, Hymenaea stigonocarpa Mart. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável,** v. 15, n. 2, p. 139–145, 2020.

DE SOUZA MENDONÇA, R. et al. Produção de biossurfactante 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**, v. 7, n. 1, p. 8300–8313, 2021.

DE SOUZA, P. M. et al. Production of a biosurfactant by *Cunninghamella echinulata* using renewable substrates and its applications in enhanced oil spill recovery. **Colloids and Interfaces**, v. 2, n. 4, p. 63, 2018.

FERREIRA, I. N. S. et al. Biosurfactant and bioemulsifier as promising molecules produced by *Mucor hiemalis* isolated from Caatinga soil. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 47, p. 51–58, 2020.

JAHAN, R. et al. Biosurfactants, natural alternatives to synthetic surfactants: physicochemical properties and applications. **Advances in colloid and interface science**, v. 275, p. 102061, 2020.

KUYUKINA, M. S. et al. Recovery of Rhodococcus biosurfactants using methyl tertiary-butyl ether extraction. **Journal of Microbiological Methods**, v. 46, n. 2, p. 149–156, 2001.

LINS, A. B. et al. Biosurfactant production by *Cunninghamella phaeosphora* UCP 1303 using controlled temperature through of Arduino. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 6, n. 12, p. 2708–2715, 2017.

MARCELINO, P. R. F. et al. Sustainable production of biosurfactants and their applications. **Lignocellulosic Biorefining Technologies**, p. 159–183, 2020.

NEMA, A. et al. Production and optimization of lipase using *Aspergillus niger* MTCC 872 by solid-state fermentation. **Bulletin of the National Research Centre**, v. 43, n. 1, p. 1–8, 2019.

PELE, M. A. et al. Development and improved selected markers to biosurfactant and bioemulsifier production by *Rhizopus* strains isolated from Caatinga soil. **African Journal of Biotechnology**, v. 17, n. 6, p. 150–157, 2018.

PELE, M. A. et al. 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**, v. 38, p. 40–48, 2019.

REIS, C. B. L. DOS et al. First report of the production of a potent biosurfactant with α, β-trehalose by *Fusarium fujikuroi* under optimized conditions of submerged fermentation. **brazilian journal of microbiology**, v. 49, p. 185–192, 2018.

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

ROY, A. A Review on the Biosurfactants: Properties, Types and its Applications. **Journal of Fundamentals of Renewable Energy and Applications**, v. 08, n. 01, 2018.

RULLI, M. M. et al. Production of a microbial emulsifier with biotechnological potential for environmental applications. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 174, p. 459–466, 2019.

SILVA, A. C. S. DA et al. Biosurfactant production by fungi as a sustainable alternative. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 85, 2018.

SILVA, R. DE C. F. et al. Applications of biosurfactants in the petroleum industry and the remediation of oil spills**. International journal of molecular sciences**, v. 15, n. 7, p. 12523–12542, 2014.