



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE TECNOLOGIA E GEOCIÊNCIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

ANDERSON OLIVEIRA DE MEDEIROS

**PRODUÇÃO DE BIOSSURFACTANTE PARA APLICAÇÃO COMO DEFENSIVO  
AGRÍCOLA NATURAL**

Recife  
2024

ANDERSON OLIVEIRA DE MEDEIROS

**PRODUÇÃO DE BIOSSURFACTANTE PARA APLICAÇÃO COMO DEFENSIVO  
AGRÍCOLA NATURAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestre(a) em Engenharia Química. Área de concentração: Engenharia de Processos Químicos e Bioquímicos.

Orientadora: Leonie Asfora Sarubbo

Coorientadora: Maria da Gloria Conceição da Silva

Recife

2024

Medeiros, Anderson Oliveira de.

Produção de biossurfactante para aplicação como defensivo agrícola natural / Anderson Oliveira de Medeiros. - Recife, 2024. 82f.: il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Tecnologia e Geociências, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, 2024.

Orientação: Leonie Asfora Sarubbo.

Coorientadora: Maria da Gloria Conceição da Silva.

Inclui referências e anexos.

1. Biodefensivos; 2. Bioestimulantes; 3. Soforolipídio. I. Sarubbo, Leonie Asfora. II. Silva, Maria da Gloria Conceição da. III. Título.

UFPE-Biblioteca Central

ANDERSON OLIVEIRA DE MEDEIROS

**PRODUÇÃO DE BIOSSURFACTANTE PARA APLICAÇÃO COMO DEFENSIVO  
AGRÍCOLA NATURAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Tecnologia e Geociências, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Química. Área de concentração: Engenharia de Processos Químicos e Bioquímicos.

Aprovado em: 29 / 02 / 2024.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Dra. Fabíola Carolina Gomes de Almeida (Examinadora Externa)  
Instituto Avançado de Tecnologia e Inovação

---

Dr. Italo José Batista Durval (Examinador Externo)  
Instituto Avançado de Tecnologia e Inovação

---

Profa. Dra. Jenyffer Medeiros Campos Guerra (Examinadora Interna)  
Universidade Federal de Pernambuco

À minha amada esposa, cujo amor e apoio foram minha âncora em todas as tempestades, e à minha dedicada orientadora e coorientadora, cuja orientação sábia e estímulo constante foram fundamentais para o sucesso desta jornada. Agradeço de coração por compartilharem comigo não apenas as alegrias da vitória, mas também os desafios do processo. Este trabalho é dedicado a vocês, que iluminaram meu caminho com amor e conhecimento, moldando não apenas minha jornada acadêmica, mas também a minha jornada de vida. Juntos, celebramos esta conquista e os laços que fortalecemos ao longo do caminho.

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus, por sempre me guiar e me dar forças para persistir nos meus sonhos e por me capacitar em todas as adversidades da minha vida.

À minha orientadora Profa. Dra. Leonie Asfora Sarubbo, por ser um exemplo de competência, profissionalismo e liderança, pela oportunidade e confiança, por ter me dado a chance de desenvolver um trabalho no qual me mostrou o real anseio do meu conhecimento e de minha alma.

À minha coorientadora Dra. Maria da Gloria Conceição da Silva, pela paciência, atenção, disponibilidade e empenho para que esse trabalho fosse realizado, me ajudando a ter uma maior maturidade intelectual. Muito obrigado.

À Universidade Federal de Pernambuco por possibilitar o desenvolvimento deste trabalho e auxílio a partir da bolsa de mestrado.

Ao Instituto Avançado de Tecnologia e Inovação, pela disponibilidade de equipamentos, insumos, local e todas as demais infraestruturas.

Aos meus amigos e companheiros que estiveram ao meu lado nessa longa e difícil caminhada tornando-a menos árdua, ao grupo Biossurfactantes que me acolheu tão bem e sempre que precisei me ajudara. A todos os meus amigos que sempre estiveram presentes, me apoiaram e torceram por mim em cada etapa vencida.

À minha esposa Evelyn da Silva Fernandes por sempre me auxiliar e visar o meu melhor nesta caminhada, foi de grande apoio nos momentos mais difíceis. Meu muito obrigado.

À minha família por sempre me apoiar de todas as maneiras e sempre acreditar em mim, em especial aos meus pais, Iranildo Jose de Medeiros e Aurea Justiniana de Medeiros, e minha irmã, Isabelly Oliveira de Medeiros.

Enfim, a todos que de alguma forma me ajudaram nas horas de desespero e me fizeram acreditar que era possível.

“Nenhuma grande descoberta foi feita  
jamais sem um palpite ousado.”

(Isaac Newton)

## RESUMO

A utilização de agrotóxicos acarreta consideráveis problemas ambientais. Possuem alta toxicidade e demoram muito para serem biodegradados. Em contrapartida, uma alternativa promissora são os defensivos agrícolas naturais, que representam uma abordagem mais benéfica ao meio ambiente. Estes consistem em produtos de origem biológica, tais como derivados de extratos de plantas, fungos e bactérias, dentre outros, constituindo-se numa opção mais sustentável para a agricultura. Os biossurfactantes são tensoativos naturais com atividade antimicrobiana e biodegradáveis, os quais vêm sendo utilizados no setor agrícola. Neste sentido, esta pesquisa teve como objetivo investigar a capacidade do biossurfactante da levedura *Starmerella bombicola* ATCC® 22214™ atuar na germinação, nutrição vegetal, proteção pós-colheita, bem como na proteção contra fitopatógenos de espécies vegetais de importância econômica visando a obtenção de uma formulação defensiva agrícola natural. Foi realizada a produção do biossurfactante da levedura *Starmerella bombicola* ATCC® 22214™ onde foi fermentado durante 168 horas a 28°C e 200 rpm em meio de cultivo contendo glicose e ácido oleico, foi analisado seu rendimento e tensão, com a aplicação do biossurfactante isolado foi usado no desenvolvimento de formulações de agrodefensivos com óleos essenciais, onde foi realizado os seguintes testes, fitotoxicidade na presença de sementes de maxixe, germinação de sementes de maxixe em solo adubado, análise antifúngica e teste de vida útil pós-colheita em folhas de alface americana. O biossurfactante da levedura *Starmerella bombicola* ATCC® 22214™ de foi capaz de reduzir a tensão superficial do meio para 31 mN/m, com rendimento de 10 g/L e CMC (Concentração Micelar Crítica) de 366 mg/L. No teste de fitotoxicidade, a formulação de biossurfactante com óleo de rícino, apresentou o melhor desempenho. Nos testes de atividade antifúngica, as formulações de biossurfactante com ácido oleico e biossurfactante com óleo de capim limão mostraram resultados promissores onde não apresentou crescimento fúngico. Nos testes de dispersão superficial, todas as formulações testadas superaram o valor do produto comercial (Neem comercial). Na germinação em solo, o biossurfactante apresentou resultado significativo, e a formulação de biossurfactante e óleo de Tea Tree teve um efeito de melhora em relação a so o biossurfactante, mostrando uma possível aplicação como bioestimulante. Esses resultados indicam a viabilidade dessas formulações como alternativas eficazes na indústria agrícola.

**Palavras-chave:** Soforolipídio; Biodefensivos; Bioestimulantes; Biodispersantes; fitopatógenos; Adjuvantes; Óleo de Neem.



## ABSTRACT

The use of pesticides causes considerable environmental problems. They are highly toxic and take a long time to biodegrade. On the other hand, a promising alternative is natural agricultural pesticides, which represent a more environmentally beneficial approach. These consist of products of biological origin, such as derivatives of plant extracts, fungi and bacteria, among others, constituting a more sustainable option for agriculture. Biosurfactants are natural surfactants with antimicrobial and biodegradable activity, which have been used in the agricultural sector. In this sense, this research aimed to investigate the ability of the biosurfactant from the yeast *Starmerella bombicola* ATCC® 22214™ to act on germination, plant nutrition, post-harvest protection, as well as protection against phytopathogens of plant species of economic importance, aiming to obtain a natural agricultural defensive formulation. Biosurfactant was produced from the yeast *Starmerella bombicola* ATCC® 22214™ where it was fermented for 168 hours at 28°C and 200 rpm in a culture medium containing glucose and oleic acid, its yield and tension were analyzed, with the application of the isolated biosurfactant was used in the development of pesticide formulations with essential oils, where the following tests were carried out, phytotoxicity in the presence of gherkin seeds, germination of gherkin seeds in fertilized soil, antifungal analysis and post-harvest shelf life test on lettuce leaves American. The biosurfactant from the yeast *Starmerella bombicola* ATCC® 22214™ was able to reduce the surface tension of the medium to 31 mN/m, with a yield of 10 g/L and CMC (Critical Micellar Concentration) of 366 mg/L. In the phytotoxicity test, the biosurfactant formulation with castor oil showed the best performance. In antifungal activity tests, the formulations of biosurfactant with oleic acid and biosurfactant with lemongrass oil showed promising results with no fungal growth. In surface dispersion tests, all tested formulations surpassed the value of the commercial product (commercial Neem). In soil germination, the biosurfactant showed a significant result, and the formulation of biosurfactant and Tea Tree oil had an improving effect in relation to the biosurfactant alone, showing a possible application as a biostimulant. These results indicate the viability of these formulations as effective alternatives in the agricultural industry.

**Keywords:** Sophorolipid; Biopesticides; Biostimulants; Biodispersants; phytopathogens; Adjuvants; Neem Oil.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

|             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |    |
|-------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Gráfico 1 – | Crescimento populacional mundial entre os anos de 1950 e 2020                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 20 |
| Gráfico 2 – | Crescimento da demanda por alimentos no mundo entre os anos de 1980 até 2050                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 21 |
| Gráfico 3 – | Consumo de agrotóxicos no Brasil entre os anos de 1990 e 2020                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 21 |
| Figura 1 –  | Processo do desenvolvimento de um parasitoide                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 23 |
| Figura 2 –  | Fotos de Entomopatógenos                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 24 |
| Figura 3 –  | Molécula de surfactante com porções apolares (hidrofóbicas) e polares (hidrofílicas)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 28 |
| Figura 4 –  | Etapas na redução da tensão superficial em função da adição de surfactante até atingir a CMC e a consequente formação de micelas                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 29 |
| Figura 5 –  | Possibilidades de aplicação de biossurfactantes na indústria agrícola                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 40 |
| Figura 6 –  | Resultado da avaliação do potencial antifúngico após 5 dias de incubação para as formulações dos biodefensivos agrícolas testadas T1 (biossurfactante + ácido oleico + água destilada), T2 (biossurfactante + óleo de Capim Limão + água destilada), T3 (biossurfactante + óleo de <i>Tea Tree</i> + água destilada), T4 (biossurfactante + óleo de rícino + água destilada), T5 (biossurfactante + Neem comercial), T6 (Neem comercial), T7 (água destilada) e T8 (biossurfactante + água destilada) | 56 |
| Figura 7 –  | Resultado do teste de fitotoxicidade em semente de <i>Cucumis anguria</i> (Maxixe) após 5 dias para as formulações dos biodefensivos agrícolas testadas (T1 (biossurfactante + ácido oleico + água destilada), T2 (biossurfactante + óleo de Capim Limão + água destilada), T3 (biossurfactante + óleo de <i>Tea Tree</i> + água destilada), T4 (biossurfactante + óleo de rícino + água destilada), T5 (biossurfactante + Neem comercial), T6                                                        | 56 |

|             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |    |
|-------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
|             | (Neem comercial), T7 (água destilada) e T8 (biossurfactante + água destilada))                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |    |
| Gráfico 4 – | Determinação do índice de germinação de <i>Cucumis anguria</i> (Maxixe) em placa de Petri para as formulações dos biodefensivos agrícolas testadas (T1 (biossurfactante + ácido oleico + água destilada), T2 (biossurfactante + óleo de Capim Limão + água destilada), T3 (biossurfactante + óleo de Tea Tree + água destilada), T4 (biossurfactante + óleo de rícino + água destilada), T5 (biossurfactante + Neem comercial), T6 (Neem comercial), T7 (água destilada) e T8 (biossurfactante + água destilada))                                                     | 57 |
| Figura 8 –  | Avaliação da germinação e crescimento de <i>Cucumis anguria</i> (Maxixe), em sementeira entre 0 e 120 h em solo e em presença de fonte de luz para as formulações dos biodefensivos agrícolas testadas (T1 (biossurfactante + ácido oleico + água destilada), T2 (biossurfactante + óleo de Capim Limão + água destilada), T3 (biossurfactante + óleo de Tea Tree + água destilada), T4 (biossurfactante + óleo de rícino + água destilada), T5 (biossurfactante + Neem comercial), T6 (Neem comercial), T7 (água destilada) e T8 (biossurfactante + água destilada)) | 58 |
| Gráfico 5 – | Determinação do índice de germinação de <i>Cucumis anguria</i> (Maxixe) em sementeira para as formulações dos biodefensivos agrícolas testadas (T1 (biossurfactante + ácido oleico + água destilada), T2 (biossurfactante + óleo de Capim Limão + água destilada), T3 (biossurfactante + óleo de Tea Tree + água destilada), T4 (biossurfactante + óleo de rícino + água destilada), T7 (água destilada) e T8 (biossurfactante + água destilada))                                                                                                                     | 59 |
| Figura 9 –  | Procedimento de medição do diâmetro do espalhamento de um volume de 40 µL dos biodefensivos agrícolas em folha de parafina testados (T1 (biossurfactante + ácido oleico + água destilada), T2 (biossurfactante + óleo de Capim Limão + água                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 61 |

destilada), T3 (biossurfactante + óleo de *Tea Tree* + água destilada), T4 (biossurfactante + óleo de rícino + água destilada), T5 (biossurfactante + Neem comercial), T6 (Neem comercial), T7 (água destilada) e T8 (biossurfactante + água destilada))

Gráfico 6 –

Percentual de dispersão para as formulações dos biodefensivos agrícolas testadas em relação ao Branco (T1 (biossurfactante + ácido oleico + água destilada), T2 (biossurfactante + óleo de Capim Limão + água destilada), T3 (biossurfactante + óleo de *Tea Tree* + água destilada), T4 (biossurfactante + óleo de rícino + água destilada), T5 (biossurfactante + Neem comercial), T6 (Neem comercial), T7 (água destilada) e T8 (biossurfactante + água destilada))

61

Figura 10 –

Resultado do teste de vida útil pós-colheita para as folhas de *Lactuca sativa var. capitata* (Alface americana) entre 0 e 72 h para as formulações dos biodefensivos agrícolas testadas (T1 (biossurfactante + ácido oleico + água destilada), T2 (biossurfactante + óleo de Capim Limão + água destilada), T3 (biossurfactante + óleo de *Tea Tree* + água destilada), T4 (biossurfactante + óleo de rícino + água destilada), T5 (biossurfactante + Neem comercial), T6 (Neem comercial), T7 (água destilada) e T8 (biossurfactante + água destilada))

63

## LISTA DE TABELAS

|            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |    |
|------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1 – | Classes, subclasses e microrganismos produtores de biossurfactantes                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 33 |
| Tabela 2 – | Composição dos biodefensivos agrícolas utilizadas na pesquisa                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 49 |
| Tabela 3 – | Comprimento das raízes de <i>Cucumis anguria</i> (Maxixe) em placas de Petri para as formulações dos biodefensivos agrícolas testadas (T1 (biossurfactante + ácido oleico + água destilada), T2 (biossurfactante + óleo de Capim Limão + água destilada), T3 (biossurfactante + óleo de <i>Tea Tree</i> + água destilada), T4 (biossurfactante + óleo de rícino + água destilada), T5 (biossurfactante + Neem comercial), T6 (Neem comercial), T7 (água destilada) e T8 (biossurfactante + água destilada)) | 56 |
| Tabela 4 – | Comprimento das raízes de <i>Cucumis anguria</i> (Maxixe) em sementeiras para as formulações dos biodefensivos agrícolas testadas (T1 (biossurfactante + ácido oleico + água destilada), T2 (biossurfactante + óleo de Capim Limão + água destilada), T3 (biossurfactante + óleo de <i>Tea Tree</i> + água destilada), T4 (biossurfactante + óleo de rícino + água destilada), T5 (biossurfactante + Neem comercial), T6 (Neem comercial), T7 (água destilada) e T8 (biossurfactante + água destilada))     | 59 |
| Tabela 5 – | Avaliação da capacidade de dispersão (espalhamento) para as formulações dos biodefensivos agrícolas testadas (T1 (biossurfactante + ácido oleico + água destilada), T2 (biossurfactante + óleo de Capim Limão + água destilada), T3 (biossurfactante + óleo de <i>Tea Tree</i> + água destilada), T4 (biossurfactante + óleo de rícino + água destilada), T5 (biossurfactante + Neem comercial), T6 (Neem comercial), T7 (água destilada) e T8 (biossurfactante + água destilada)).                         | 61 |

## SUMÁRIO

|              |                                                                              |           |
|--------------|------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1</b>     | <b>INTRODUÇÃO</b>                                                            | <b>17</b> |
| <b>2</b>     | <b>OBJETIVOS</b>                                                             | <b>19</b> |
| 2.1          | OBJETIVO GERAL                                                               | 19        |
| 2.2          | OBJETIVOS ESPECÍFICOS                                                        | 19        |
| <b>3</b>     | <b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b>                                                 | <b>20</b> |
| 3.1          | ASPECTOS GERAIS DA ATIVIDADE AGRÍCOLA MUNDIAL E<br>BRASILEIRA                | 20        |
| 3.2          | DEFENSIVOS AGRÍCOLAS                                                         | 21        |
| <b>3.2.1</b> | <b>Agrotóxicos</b>                                                           | <b>21</b> |
| <b>3.2.2</b> | <b>Controle biológico</b>                                                    | <b>23</b> |
| <b>3.2.3</b> | <b>Biodefensivos agrícolas</b>                                               | <b>24</b> |
| 3.3          | FORMULAÇÃO DE BIODDEFENSIVOS AGRÍCOLAS                                       | 24        |
| <b>3.3.1</b> | <b>Adjuvantes ativadores ou potencializadores dos defensivos agrícolas</b>   | <b>25</b> |
| 3.4          | SURFACTANTES                                                                 | 29        |
| <b>3.4.1</b> | <b>Surfactantes químicos</b>                                                 | <b>31</b> |
| <b>3.4.2</b> | <b>Surfactantes de base natural</b>                                          | <b>31</b> |
| <b>3.4.3</b> | <b>Biossurfactantes</b>                                                      | <b>31</b> |
| 3.4.3.1      | Classificação                                                                | 32        |
| 3.4.3.2      | Propriedades dos biossurfactantes                                            | 36        |
| 3.4.3.3      | Fatores que afetam a produção de biossurfactantes                            | 38        |
| 3.4.3.4      | Recursos naturais renováveis usados na produção de<br>biossurfactantes       | 39        |
| 3.5          | APLICAÇÃO DE BIOSURFACTANTES NA INDÚSTRIA<br>AGRÍCOLA                        | 39        |
| <b>3.5.1</b> | <b>Adjuvantes na melhoria da qualidade do solo</b>                           | <b>40</b> |
| <b>3.5.2</b> | <b>Adjuvantes na eliminação de patógenos de plantas</b>                      | <b>42</b> |
| <b>3.5.3</b> | <b>Adjuvantes interação de microrganismos vegetais<br/>benéficos</b>         | <b>44</b> |
| 3.6          | POTENCIAL E PERSPECTIVAS DE USO DOS<br>BIOSURFACTANTES NA INDÚSTRIA AGRÍCOLA | 45        |
| <b>4</b>     | <b>MATERIAIS E MÉTODOS</b>                                                   | <b>47</b> |

|          |                                                                                      |           |
|----------|--------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 4.1      | MICROORGANISMO, MANUTENÇÃO E CRESCIMENTO DO INÓCULO                                  | 47        |
| 4.2      | PRODUÇÃO DO BIOSSURFACTANTE                                                          | 47        |
| 4.3      | DETERMINAÇÃO DA TENSÃO SUPERFICIAL                                                   | 47        |
| 4.4      | EXTRAÇÃO E ISOLAMENTO DO BIOSSURFACTANTE                                             | 47        |
| 4.5      | DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO MICELAR CRÍTICA (CMC)                                   | 48        |
| 4.6      | FORMULAÇÃO DOS DEFENSIVOS AGRÍCOLAS NATURAIS                                         | 48        |
| 4.7      | AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIFÚNGICO DOS FORMULADOS                                    | 49        |
| 4.8      | DETERMINAÇÃO DA FITOTOXICIDADE DOS FORMULADOS USANDO O TESTE DE GERMINAÇÃO EM PLACAS | 50        |
| 4.9      | AVALIAÇÃO DA GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO EM SEMEITEIRA                                  | 50        |
| 4.10     | AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE DE DISPERSÃO (ESPALHAMENTO) DOS FORMULADOS EM SUPERFÍCIE     | 51        |
| 4.11     | TESTE DE VIDA ÚTIL PÓS-COLHEITA                                                      | 51        |
| 4.12     | ANÁLISES ESTATÍSTICAS                                                                | 52        |
| <b>5</b> | <b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>                                                        | <b>53</b> |
| 5.1      | PRODUÇÃO DO BIOSSURFACTANTE                                                          | 53        |
| 5.2      | AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIFÚNGICO DOS FORMULADOS                                    | 53        |
| 5.3      | DETERMINAÇÃO DA FITOTOXICIDADE DOS FORMULADOS USANDO O TESTE DE GERMINAÇÃO EM PLACAS | 55        |
| 5.4      | AVALIAÇÃO DA GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO EM SEMEITEIRA                                  | 58        |
| 5.5      | AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE DE DISPERSÃO (ESPALHAMENTO) DOS FORMULADOS EM SUPERFÍCIE     | 60        |
| 5.6      | TESTE DE VIDA ÚTIL PÓS-COLHEITA                                                      | 63        |
| <b>6</b> | <b>CONCLUSÃO</b>                                                                     | <b>65</b> |
|          | <b>REFERÊNCIAS</b>                                                                   | <b>66</b> |
|          | <b>ANEXO A – Biosurfactant: A Biodegradable Antimicrobial Substance</b>              | <b>79</b> |

|                                                                                                                                      |           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>ANEXO B – Biosurfactants for Formulation of Sustainable Agrochemicals</b>                                                         | <b>80</b> |
| <b>ANEXO C – Surface Properties and Biological Activities on Bacteria Cells by Biobased Surfactants for Antifouling Applications</b> | <b>81</b> |
| <b>ANEXO D – Biosurfactants: Promising Biomolecules for Agricultural Applications</b>                                                | <b>82</b> |



## 1 INTRODUÇÃO

Com um crescimento populacional de forma exponencial a partir da década de 90, houvesse a necessidade de ter um aumento da produção de alimentos. So que com limitações ambientais propostas com acordos ambientais entre nações, os países tiveram que analisar formas de aumentar a produção de alimentos agrícolas, mas não abdicando dos cuidados ambientais. (Embrapa, 2018).

De acordo com a *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (FAO), entre os anos de 1990 e 2020, o consumo mundial de agroquímicos passaram 1,7 milhões de toneladas para 2,7 milhões de toneladas (Fao, 2023). Esses agroquímicos são substâncias químicas que podem realizar o controle biológico de ervas daninhas ou indesejadas (herbicidas) (Dehnert *et al.*, 2021), ou mesmo realizar a proteção dos produtos agrícolas contra fungos (fungicidas) (Zhang *et al.*, 2020) e contra pestes como roedores e insetos (pesticidas) (Calista *et al.*, 2022).

Em 2008, segundo o Instituto Nacional de Câncer (INCA), o Brasil consumiu 1 milhão de toneladas de agrotóxicos (Canal Agro, 2021). O uso dos agrotóxicos traz grandes problemas, uma vez que eles não são biodegradáveis, apresentando grande dificuldade de serem quebrados em elementos atóxicos. Muitos destes produtos são despejados nos corpos d'água causando a intoxicação de peixes por meio da bioacumulação em seus tecidos ou mantendo sua presença nos alimentos como hortaliças (Campanhola; Bettiol, 2003; Dehnert *et al.*, 2021; Ward *et al.*, 2022).

Existem relatos de trabalhadores que atuam diretamente com estes agrotóxicos nas lavouras e que desenvolveram diversas enfermidades, das quais muitas dessas levaram esses indivíduos a óbito por conta da sua alta toxicidade (Rigotto; Vasconcelos; Rocha, 2014).

Analisando esse quadro, os órgãos governamentais decidiram investir em políticas ambientais e aumentar a necessidade de defensivos agrícolas naturais. Desta forma, a busca por bioprodutos ou produtos verdes para a obtenção de agrodefensivos se faz necessária para reduzir a permanência de agroquímicos tóxicos no agronegócio (Campanhola; Bettiol, 2003).

Os defensivos agrícolas naturais são de origem biológica e podem ser obtidos de extratos de plantas, extrato de fungos ou bactérias e a fins. Por causa da sua origem, esses defensivos apresentam a toxicidade reduzida e a biodegradabilidade elevada (Bailey; Boyetchko; Längle, 2010; Cavalcante *et al.*, 2021; Ulrich *et al.*, 2021).

Surfactantes do tipo petroderivados já são largamente utilizados na agricultura como auxiliares das produções agrícolas (Mann; Bidwell, 2001; Marketsandmarkets, 2018); desta forma, existe a possibilidade de substituí-los pelos seus equivalentes biológicos.

Os surfactantes verdes são substâncias tensoativas com características anfipáticas e antimicrobianas que podem ser extraídas de plantas e/ou podem ser obtidas a partir do metabolismo de micro-organismos (biossurfactantes) ou por síntese química utilizando extratos naturais (surfactantes de base natural) (De Medeiros *et al.*, 2020; Farias *et al.*, 2021; Silva *et al.*, 2018; Sivapathasekaran; Sen, 2017). Essas biomoléculas, por apresentarem certas características de interesse para as atividades agroindustriais, vêm sendo analisadas para serem empregadas como biopesticidas, biofertilizantes, bioestimulantes, biodispersantes e biorremediadores de solo, dentre outras aplicações. No entanto, as pesquisas que usam biossurfactantes na área agrícola, quando comparadas com pesquisas nas áreas ambiental, de saúde, cosmética e alimentícia ainda são pouco exploradas (Bailey; Boyetchko; Längle, 2010; Maldaner *et al.*, 2022; Serrano-Carreón *et al.*, 2022; Shokouhi; Seifi, 2020; Ulrich *et al.*, 2021).

Os soforolipídeos constituem uma das classes de biossurfactantes do tipo glicolipídeos mais estudadas (Konishi *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2019), as aplicações dos soforolipídeos incluem o uso desses biossurfactantes como agentes de limpeza e cosméticos, agentes agrícolas e de biorremediação (Dolman *et al.*, 2017). Dentre as leveduras que os produzem, a *Starmerella bombicola* é uma das linhagens mais produtivas para atender uma possível demanda industrial (Van Bogaert *et al.*, 2019).

O mercado de soforolipídeos foi projetado para atingir US\$ 5,52 bilhões em 2022, o que ilustra que é o maior mercado global de biossurfactantes microbianos (Roelants *et al.*, 2016).

Diante dos fatos apresentados, esta pesquisa teve como objetivo investigar a capacidade do biossurfactante da levedura *Starmerella bombicola* ATCC® 22214™ atuar na germinação, nutrição vegetal, proteção pós-colheita, bem como na proteção contra fitopatógenos de espécies vegetais de importância econômica visando a obtenção de uma formulação defensiva agrícola natural.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a capacidade do biossurfactante da levedura *Starmerella bombicola* ATCC® 22214™ atuar como um defensivo agrícola natural.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Produzir biossurfactante utilizando a levedura *Starmerella bombicola* ATCC® 22214™.
- Formular defensivos agrícolas naturais contendo o biossurfactante junto a outros defensivos naturais.
- Avaliar a fitotoxicidade dos defensivos agrícolas formulados.
- Avaliar o potencial antifúngico dos defensivos agrícolas naturais formulados.
- Avaliar a germinação em sementeira dos defensivos agrícolas naturais formulados.
- Avaliar o potencial de dispersão do biossurfactante e dos defensivos agrícolas formulados em folhas de parafina.
- Realizar o teste de vida útil pós-colheita de vegetal sensível tratado com os defensivos agrícolas formulados.

### 3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

#### 3.1 ASPECTOS GERAIS DA ATIVIDADE AGRÍCOLA MUNDIAL E BRASILEIRA

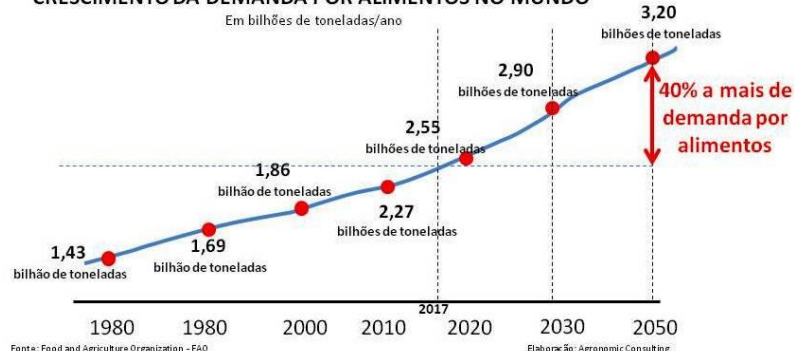
Com o crescimento exponencial da população mundial a partir de 1950, como mostra o Gráfico 1, houve a necessidade de aumentar a produção dos alimentos por conta do aumento da demanda de alimentos, como ilustrado no Gráfico 2. Tendo em vista o aumento do consumo de alimentos e o aumento populacional, foi observada a necessidade de aumentar a produção e/ou diminuir o número de perdas nas lavouras por conta de fungos, pestes e plantas concorrentes. Foi então que os agrotóxicos, substâncias químicas que visam o controle biológico de micro e macro-organismos e plantas concorrentes, começaram a ser utilizados. Em paralelo, o desenvolvimento de alimentos transgênicos, alimentos modificados geneticamente que visam a resistência a patógenos e/ou aumento da produtividade, também foi intensificado com o intuito de reduzir o consumo de agrotóxicos (Jhansi Rani; Usha, 2013).

Gráfico 1 – Crescimento populacional mundial entre os anos de 1950 e 2020



Fonte: Fao (2023).

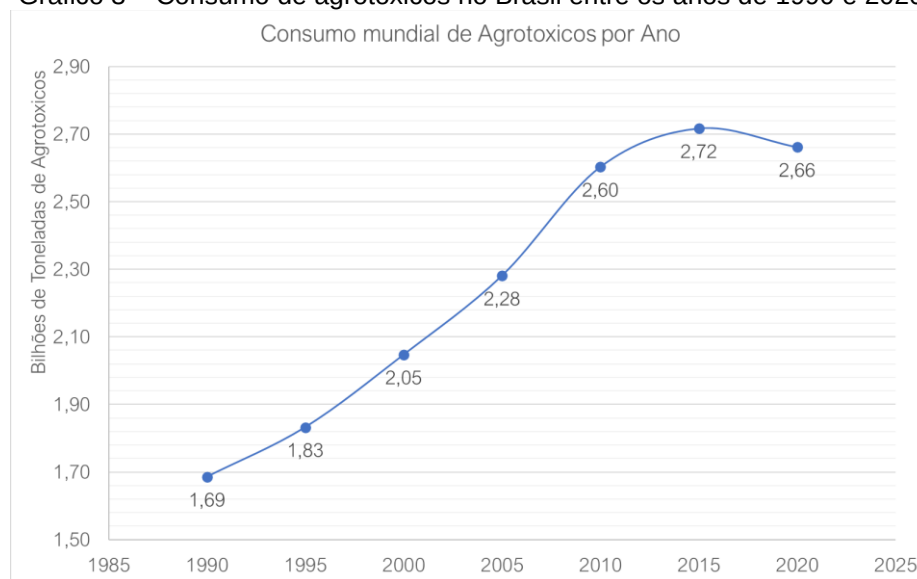
Gráfico 2 – Crescimento da demanda por alimentos no mundo entre os anos de 1980 até 2050  
CRESCIMENTO DA DEMANDA POR ALIMENTOS NO MUNDO



Fonte: Dias (2017).

Entretanto, com o uso dos transgênicos, o uso de agrotóxicos teve um aumento de quase 160%, equivalendo a mais ou menos 1 bilhão de toneladas de agrotóxicos, como indicado no Gráfico 3, isto ocorreu porque os transgênicos apresentaram um aumento de resistência frente a alguns patógenos, porém ficaram mais suscetível a outros, não diminuindo, assim, a necessidade do uso de agrotóxicos (Rizzatto, 2022).

Gráfico 3 – Consumo de agrotóxicos no Brasil entre os anos de 1990 e 2020



Fonte: Fao (2023).

## 3.2 DEFENSIVOS AGRÍCOLAS

### 3.2.1 Agrotóxicos

Os agrotóxicos são compostos químicos que têm como função o controle de pragas de modo mais generalizado, e a maioria desses produtos apresenta um tempo

de biodegradabilidade muito alto; além disso, possuem alta toxicidade para os humanos e outros animais (Campanhola; Bettiol, 2003). Muitos dos problemas gerados pelos agrotóxicos ocorrem pelo uso incorreto e acima da concentração permitida; alguns trabalhos já mostram que este uso está afetando indiretamente até animais polinizadores (Ward *et al.*, 2022). A baixa biodegradabilidade dos agrotóxicos causa acúmulos excessivos em leitos fluviais, bem como o aumento da presença de diversos tipos de agroquímicos em um único alimento. Esses fatores contribuem para o aumento da contaminação de recursos pesqueiros e, indiretamente, os humanos podem ser afetados pelo consumo desses alimentos (Dehnert *et al.*, 2021).

Os agrotóxicos incluem herbicidas, fungicidas e larvicidas. Os herbicidas são agrotóxicos voltados para o controle de vegetações concorrentes ou indesejáveis (ervas daninhas). Como não é possível combater unicamente um tipo de vegetação nas lavouras, é recomendado que se utilizem herbicidas com ações diferentes frente às diversas vegetações. Entretanto, essa estratégia é prejudicial do ponto de vista ambiental, pois esta mistura de herbicidas pode ser levada para os leitos fluviais, uma vez que são aplicados principalmente próximo às raízes. Além disso, os herbicidas são os tipos de agrotóxicos que mais afetam os mamíferos (Dehnert *et al.*, 2021; Ruuskanen *et al.*, 2022).

Os fungicidas são os agrotóxicos voltados para o combate de fungos que atacam espécies vegetais. Os fungos são um dos maiores patógenos de alimentos. No mercado mundial atual os fungicidas representam 30% de todos os agrotóxicos. Nos fungicidas, o mais comum é a utilização de cobre, um metal pesado que pode gerar contaminação de águas e é tóxico a seres vivos em altas quantidades (Zhang *et al.*, 2020). Os fungicidas são os maiores responsáveis pela intoxicação de insetos polinizadores (Rondeau; Raine, 2022).

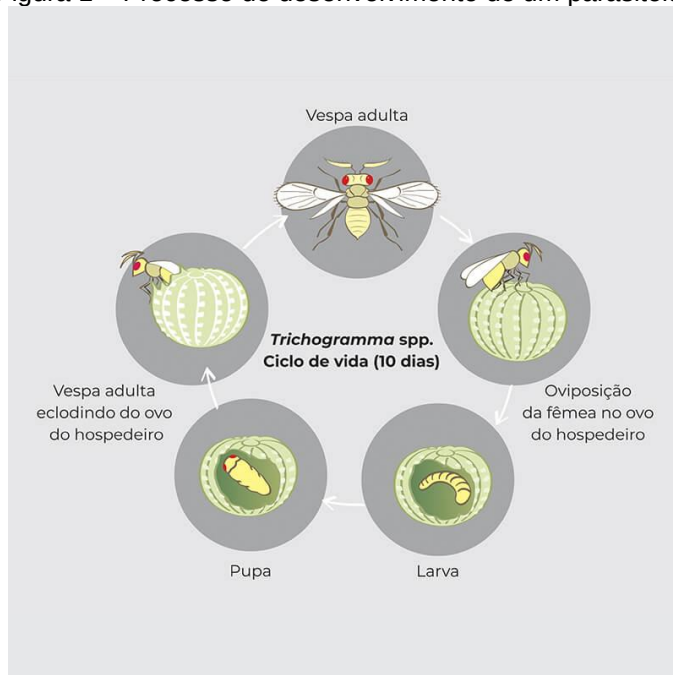
Os pesticidas (ou inseticidas) são os últimos representantes dos agrotóxicos. Esses produtos são utilizados no combate de pestes, constituídas principalmente por insetos, os quais utilizam as lavouras para se alimentar, procriar e se desenvolver; dentre esses estão as lagartas, mariposas e afins. Eles são responsáveis por afetarem os seres humanos em maior escala, pois se acumulam nas superfícies dos alimentos e podem ser absorvidos por eles (Calista *et al.*, 2022; Treviño *et al.*, 2023).

### 3.2.2 Controle biológico

Diferentemente dos agrotóxicos, o controle biológico utiliza a própria natureza para realizar o controle. Com isso, não afeta o meio ambiente, embora não tenha a mesma eficiência de um agrotóxico e necessita de certas condições especiais para sua aplicação (Campanhola; Bettiol, 2003).

O controle biológico pode ser realizado através do uso de parasitóides, predadores e entomopatógenos. Os parasitóides estão presentes através da inoculação das larvas de um inseto dentro de um ovo de uma praga, na qual se alimentam e se desenvolvem no ovo parasitado e depois eclodem já na forma adulta. Um exemplo é o *Trichogramma pretiosum*, que parasita ovos de mariposas, exemplificado pela Figura 1 (Roltsch et al., 2021).

Figura 1 – Processo do desenvolvimento de um parasitoide



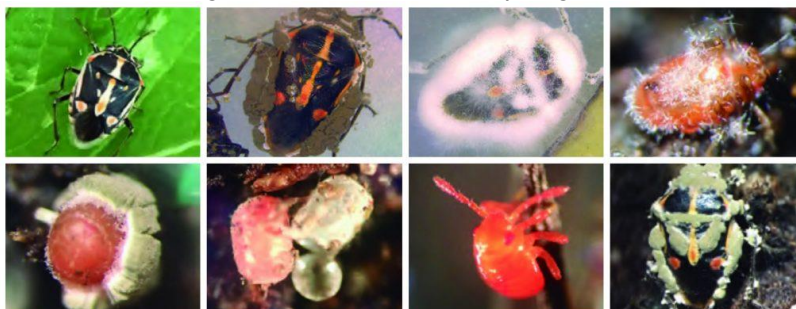
Fonte: Nunes (2019).

Um dos métodos mais antigos para o controle das pragas consistem em colocar um predador no mesmo ambiente da praga para que ele se alimente abundantemente da mesma. A *Harmonia axyridis* (joaninha) é um bom exemplo, a qual se alimenta de *Myzus persicae* (pulgão) (Silva; Ramos, 2022).

Os entomopatógenos, por sua vez, constituem um fungo ou bactéria que atacam uma praga (inseto ou microrganismo) (Figura 2). Esta aplicação não é comum,

mas em alguns casos é a que apresenta maior eficiência (Ramírez-Camejo; Bayman; Mejía, 2022).

Figura 2 – fotos de Entomopatógenos



Fonte: Agronotips (2019).

### 3.2.3 Biodefensivos agrícolas

Os biodefensivos agrícolas incluem os bioherbicidas, biofungicidas e biopesticidas. Os bioherbicidas utilizam produtos de origem orgânicas, como por exemplo, extrato de fungo (Ulrich *et al.*, 2021) extrato de óleo (Maldaner *et al.*, 2022) e enzima de frutas (Cavalcante *et al.*, 2021), dentre outros materiais biológicos.

Os biofungicidas são o grupo de biodefensivos agrícolas focado em fungos. O método de ação no geral é a utilização de fungos concorrentes, mas que não afetem o desenvolvimento do produto agrícola (Serrano-Carreón *et al.*, 2022). A utilização de extratos de sementes como biofungicidas tem sido descrita (Shokouhi; Seifi, 2020; Gomes *et al.*, 2021).

Os biopesticidas são os biodefensivos agrícolas voltado para eliminar insetos ou outros seres vivos maiores, dos Biodefensivos agrícolas são os que possuem o maior número de trabalhos. Assim como os outros biodefensivos agrícolas, eles são derivados de extratos de plantas, frutas, crustáceos, sementes e seivas de árvores, massa celular ou extratos de micro-organismos, dentre outras substâncias naturais. Nos últimos anos seu uso teve um aumento significativo na América do Norte (Bailey; Boyetchko; Längle, 2010).

## 3.3 FORMULAÇÃO DE BIODEFENSIVOS AGRÍCOLAS

As formulações de biodefensivos agrícolas podem ser diluídas em água ou outros solventes, ou podem ser aplicadas sem diluição.



As formulações para diluição em água podem ser vendidas como Concentrado Emulsionável (CE), em forma de emulsões com pequenas partes de água e, por conta disso, possuem um aspecto leitoso (Arthurs; Dara, 2019; Gouli; Marcelino; Gouli, 2021), como Suspensão Concentrada (SC), que são inertes e estáveis e precisam ser agitadas antes de serem aplicadas (Nascimento *et al.*, 2022), como Pó Solúvel (PS) (Bapat *et al.*, 2022), como Pó Molhável (PM), que é muito semelhante ao PS só que quando aplicado não se solubiliza na água, havendo necessidade de se manter sob agitação durante a aplicação (Kumar *et al.*, 2019) e Microencapsulado, o qual consiste numa “particularidade” do PM, pois não está em contato direto com a água e sim está encapsulado, para que seja liberado de forma contínua e controlada ao longo do tempo durante sua aplicação (Feng *et al.*, 2020). As formulações para diluição em outros solventes são comercializadas em altas concentrações e precisam ser diluídas em óleos ou em solventes orgânicos (Riyanto *et al.*, 2022).

As formulações para aplicação direta existem na forma de Pó seco (P), que são essencialmente aplicadas quando a pulverização de água pode danificar o local ou mesmo os produtos agrícolas, e são misturadas com pó inertes, como talco e argila (Wu *et al.*, 2018), na forma de Granulado (GR), que são semelhantes ao pó seco, porém são constituídas de sólidos de maior granulometria, na faixa de 0,3 a 0,6 mm, para que se tenha uma liberação mais lenta e contínua do defensivo (Brar *et al.*, 2006) e na forma de Isca, que são constituídas por sólidos de granulometria ainda maior do que as formulações na forma GR, pois possuem a finalidade de serem consumidas pelas pragas (Werner *et al.*, 2015).

### **3.3.1 Adjuvantes ativadores ou potencializadores dos defensivos agrícolas**

O mercado conta com muitas soluções e produtos para garantir a qualidade de aplicação, redução de perdas e o aumento da eficiência dos manejos fitossanitários. Kissmann (1998) define que qualquer substância ou composto sem propriedades fitossanitárias, exceto a água, que é acrescido numa preparação de agrotóxico, para facilitar a aplicação, aumentar a eficácia ou diminuir riscos, é classificada como um adjuvante.

As pesquisas afirmam que os adjuvantes podem influenciar vários fatores nas aplicações dos defensivos. Os principais pontos estão relacionados a alteração das propriedades da solução, aumento de eficácia biológica, exercendo também ganhos

no desempenho da operação. Aspectos como maior molhamento, melhor espalhamento sobre as folhas, maior eficiência e velocidade de absorção do ingrediente ativo sobre o alvo (cultura, plantas daninhas e insetos) são benefícios que podem ser obtidos pelo uso dos adjuvantes (Cunha *et al.*, 2017; Xu *et al.*, 2010).

Deve-se ter em conta que há muitas barreiras que envolvem as aplicações de defensivos agrícolas. No que se refere à planta, temos as superfícies foliares com ceras difíceis de serem molhadas e que evitam a entrada de líquidos na planta. Essas ceras são empecilhos primários contra a deposição, retenção, disseminação e penetração de gotículas de agroquímicos. Os adjuvantes podem superar esses impeditivos e aumentar a deposição, propagação, absorção, e penetração de produtos na planta (Gaskin *et al.*, 2000; Kudsk; Mathiassen, 2007; Ramsey *et al.*, 2005).

Já no que se refere às barreiras climáticas, vários fatores podem atuar negativamente sobre as aplicações. O desvio da trajetória que impede que as gotas produzidas atinjam o alvo, está relacionado, principalmente, ao tamanho de gotas e à velocidade do vento. As condições ambientais exercem grande influência no resultado da operação, sendo assim, necessário conhecer o espectro das gotas pulverizadas adequando não só o seu diâmetro, mas também, buscando outras ferramentas. Uma alternativa são os adjuvantes como os óleos para obter maior penetração na folha, umectantes para reduzir a evaporação e bicos dos pulverizadores para a construção de gotas mais adequadas (Rizzatto, 2022).

O portfólio de adjuvantes disponíveis no mercado é vasto e compreende, principalmente: óleos minerais e/ou vegetais, silicones, surfactantes, emulsificantes, nitrogênio, fósforo, resinas orgânicas, EDTA, óleos essenciais, entre outros. A partir disso, torna-se imprescindível classificá-los de acordo com seus benefícios. Vários autores definem os adjuvantes em utilitários e ativadores (Stock; Briggs, 2000; Tu; Randall, 2003).

Os adjuvantes utilitários podem modificar as características físicas da solução de pulverização (Hazen, 2000), melhorar a qualidade, a viscosidade e a tensão superficial das gotas. Seus principais efeitos são:

- redução da formação de espuma;
- sequestro de cátions;
- ação dispersante;
- acidificante e tamponam-te de pH, entre outros.

Os adjuvantes ativadores melhoram a eficácia biológica e química dos produtos aplicados, a qualidade da aplicação, tamanho e o espalhamento de gotas e podem promover certa resistência à chuva (Hazen, 2000). Os principais produtos e seus efeitos são: surfactantes, que garantem o espalhamento da gota sobre as folhas; emulsificantes, fertilizantes nitrogenados e óleos que aumentam a velocidade de absorção dos produtos usados; umectantes, que diminuem a evaporação; e os adesivos, que evitam escorrimento e garantem melhor fixação sobre as folhas. Os adjuvantes ativadores também modificam a deposição da pulverização na folhagem da planta e aumentam o movimento na superfície das folhas para áreas de maior absorção (Rizzatto, 2022).

Três fatores são importantes na escolha dos adjuvantes. São eles: (i) planta (espécie, estágio fenológico e local); (ii) aplicação (modalidade, momento e condição ambiental) e (iii) alvo biológico (planta daninha, inseto e doença). A necessidade do adjuvante estará diretamente relacionada ao defensivo usado e os objetivos da aplicação. Em um estudo, Xu *et al.* (2010) realizaram testes com Óleo Vegetal Concentrado (OVC), Óleo de Semente Metilada (OSM), Surfactante Não Iônico (SNI), e uma Mistura de Surfactante e Óleo (MSO). A adição de adjuvantes à solução de pulverização reduziu significativamente o ângulo de contato das gotas, gerando maior espalhamento e aumento da área molhada. Os autores observaram que os ganhos na qualidade da aplicação variaram com a espécie vegetal e a classe adjuvante usados. Em geral, o OSM e o SNI aprimoraram a gota, espalhando e mantendo o tempo de evaporação das gotículas nas superfícies das folhas. Após a evaporação, os resíduos químicos formaram acúmulos no formato de anéis. Já as gotas com adjuvantes a base de óleo apresentaram distribuição residual com deposição mais uniforme (Yu *et al.*, 2009). investigaram o tempo de evaporação e a área de cobertura de gotículas. Eles verificaram que a dinâmica de evaporação e deposição são muito influenciadas pelo tamanho de gota e umidade relativa. Em um ambiente com 30% a 90% de umidade relativa à adição de surfactantes pode aumentar a área de cobertura de gotículas de 4,5 para 10,1 vezes nas folhas com mais pelos, e 3,4 para 4,1 vezes nas folhas cerosas. Também observaram que o tempo para a evaporação das gotas foi maior.

De acordo com (Xu *et al.*, 2010). os surfactantes apresentam as seguintes classes: não iônicos, aniônicos, catiônicos, organossilicones e silicones. Eles diminuem a tensão superficial das gotas nas superfícies foliares, garantindo uma maior cobertura

das gotículas e absorção foliar. A concentração do surfactante é importante e influência na eficácia da aplicação dos agroquímicos. Concentrações crescentes de surfactante 0,01% a 1% promovem melhor absorção foliar dos produtos, entretanto, para alguns surfactantes, a maior concentração pode produzir um efeito negativo sobre a absorção dos químicos (Wang; Liu, 2007).

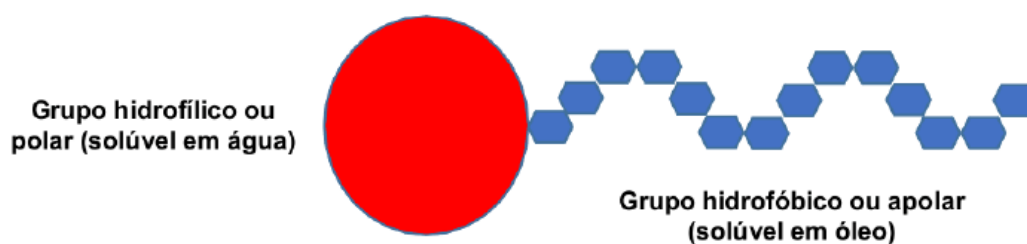
### 3.4 SURFACTANTES

As formulações agroquímicas requerem o uso de um agente tensoativo, que não é apenas essencial para sua preparação e manutenção da estabilidade física a longo prazo, mas também essencial para melhorar o desempenho biológico do agroquímico, aumentando a absorção foliar de herbicidas promotores de crescimento e desfolhantes (Castro *et al.*, 2014).

Cerca de 230.000 toneladas de tensoativos são usadas anualmente no mundo em produtos agroquímicos, com uma formulação tipicamente contendo 1-10% de um ou mais surfactantes. O surfactante, como um plastificante, suaviza as ceras cristalinas na cutícula e assim aumenta a mobilidade dos agroquímicos através da membrana cuticular (Schönherr; Baur; Uhlig, 2000). O desenvolvimento de sistemas à base de surfactantes como bioativadores de ativos é um fator chave para melhorar o desempenho econômico, aumentando a eficiência do processo, energia e economia de matéria-prima (Castro *et al.*, 2014).

Os surfactantes são substâncias químicas que possuem a capacidade de reduzir a tensão superficial da água, “solubilizando” água em óleo e/ou óleo em água, em função da característica de sua molécula, que tem uma parte hidrofílica e a outra hidrofóbica (Figura 3) (de Almeida *et al.*, 2016; da Silva *et al.*, 2022).

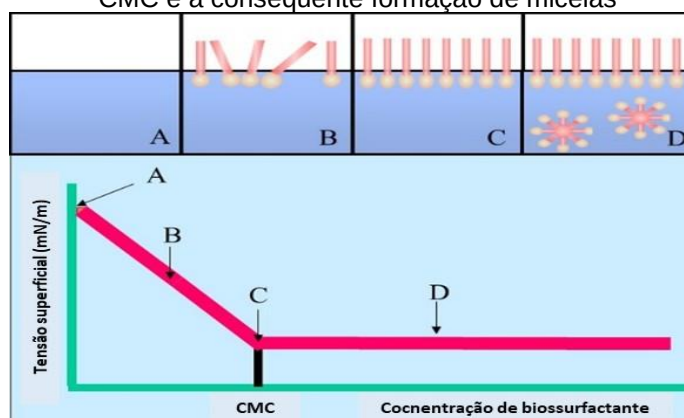
Figura 3 – Molécula de surfactante com porções apolares (hidrofóbicas) e polares (hidrofílicas)



Fonte: Da Silva *et al.* (2019).

A maneira mais eficaz de caracterizar um surfactante é através da medição da força de atração entre as moléculas de líquidos; graduando, portanto, o surfactante em sua capacidade de afetar as tensões superficiais e interfaciais (Sarubbo *et al.*, 2022). A Concentração Micelar Crítica (CMC) é definida como a concentração mínima de surfactante necessária para atingir a menor tensão superficial. Ao atingir a CMC as moléculas anfipáticas são agregadas com as porções hidrofílicas posicionadas para fora da molécula e as porções hidrofóbicas para dentro, conforme ilustrado na Figura 4 (Eras-Muñoz *et al.*, 2022). Depois de atingir os valores de CMC, nenhuma adição adicional de surfactante afetará uma redução adicional na tensão superficial. Dessa forma, surfactantes com uma CMC reduzida são preferencialmente usados em comparação com aqueles com valores mais altos de CMC (Silva *et al.*, 2022).

Figura 4 – Etapas na redução da tensão superficial em função da adição de surfactante até atingir a CMC e a consequente formação de micelas



Fonte: Santos *et al.* (2016).

Os surfactantes são classificados em duas categorias: surfactantes químicos e surfactantes verdes. Os surfactantes verdes divididos em duas subclasses: os biossurfactantes e os surfactantes de base natural (*biobased surfactants*) (Farias *et al.*, 2021).

### 3.4.1 Surfactantes químicos

Os surfactantes químicos são originados de petroderivados e dominam o mercado mundial de surfactantes. Como esses surfactantes são produzidos em larga escala, o seu valor é muito mais competitivo frente aos surfactantes verdes. Por outro lado, embora possuam elevado poder tensoativo e custo mais reduzido, acarretam

diversos problemas em função do alto nível de toxicidade e um tempo de degradabilidade muito alto (Paulino *et al.*, 2016).

### **3.4.2 Surfactantes de base natural**

Como o seu nome pode indicar os surfactantes de base natural, são aqueles que utilizam produtos naturais como matéria prima para sua produção. Uma vez que os surfactantes de base natural são recentes, ainda não se sabe a sua real produtividade, mas eles já apresentam ótimos resultados de aplicações em diversas áreas ( De Medeiros *et al.*, 2020; Farias *et al.*, 2021; Hayes; Smith, 2019).

### **3.4.3 Biossurfactantes**

Os biossurfactantes podem ser obtidos de extratos de plantas, raízes, frutas ou por transformação metabólica de micro-organismos, especialmente bactérias e leveduras (Zahed *et al.*, 2022). Os biossurfactantes microbianos são os mais eficientes e amplamente estudados e possuem as mesmas especificações dos surfactantes químicos, porém apresentam biodegradabilidade, toxicidade reduzida e biodisponibilidade ( De Medeiros *et al.*, 2020; Rocha *et al.*, 2018).

Os biossurfactantes encontram aplicação em diversos seguimentos industriais, como o de petróleo, de produtos de limpeza, de cosméticos, têxtil, de alimentos e agrícola. Neste último, os biossurfactantes podem ser usados na formulação de biopesticidas, biofertilizantes e bioestimulantes (Silva; Sarubbo, 2022; Ribeiro, Guerra, Sarubbo, 2020; Santos *et al.*, 2016).

A substituição de surfactantes sintéticos por biossurfactantes reduziria as emissões de CO<sub>2</sub> ao longo da vida em 8%, evitando a liberação de cerca de 1,5 milhão de toneladas de CO<sub>2</sub> na atmosfera (Sarubbo *et al.*, 2022).

Os primeiros estudos no campo da pesquisa de biossurfactantes microbianos ocorreram na década de 1960 e, desde então, as pesquisas permitiram o desenvolvimento e a comercialização de inúmeros produtos contendo essas biomoléculas. Na última década, os estudos voltados para a produção de biossurfactantes se intensificaram devido à eficiência e biocompatibilidade desses compostos (Silva *et al.*, 2022).

Apesar de extremamente eficientes, os biossurfactantes atualmente comercializados possuem um custo de produção mais elevado do que seus equivalentes sintéticos (Mohanty *et al.*, 2021). Isso, no entanto, pode ser reduzido dependendo dos substratos usados durante a fermentação e rendimentos de produção de diferentes cepas microbianas produtoras de biossurfactante (Fenibo *et al.*, 2019). Além disso, como a maioria das cepas microbianas produz uma mistura de diferentes compostos biossurfactantes, o grau de pureza necessário para algumas aplicações, como nas áreas farmacêutica e médica, pode ser um fator limitante para sua aplicação. Dessa forma, o desenvolvimento de estratégias que possibilitem a produção e consequente aplicação de biossurfactantes em escala industrial é de fundamental importância (Sivapathasekaran; Sen, 2017).

#### 3.4.3.1 Classificação

A estrutura molecular e a fonte microbiana de produção são os critérios mais importantes para a classificação de biossurfactantes. As principais classes de biossurfactantes são formadas pelos glicolipídios, lipopeptídeos, fosfolipídios, biossurfactantes poliméricos, biossurfactantes particulados e ácidos graxos. A massa molar média de um biossurfactante varia de 500 Da a 1500 Da. Os biossurfactantes são amplamente agrupados em biossurfactantes de baixa massa molar e alta massa molar, com base em suas naturezas bioquímicas. Biossurfactantes de baixa massa molar são mais eficazes na redução da tensão superficial na interface ar-água e a tensão interfacial na interface óleo-água, enquanto os de maior massa molar são mais usados na estabilização de emulsões óleo-água (Sarubbo *et al.*, 2022).

Lipoproteínas, proteínas, polissacarídeos e lipopolissacarídeos são biossurfactantes de alta massa molar, muitas vezes referidos como bioemulsificantes (Rocha *et al.*, 2018). Glicolipídios, lipopeptídeos e fosfolipídios são compostos de baixa massa molar e são classicamente chamados de biossurfactantes (De Almeida *et al.*, 2017).

A classe de biossurfactantes mais amplamente investigada são os glicolipídios. A estrutura glicolipídica é composta por uma porção de carboidrato hidrofílica conectada a cadeias de ácidos graxos hidrofóbicos de comprimentos variáveis, através de um grupo éster (Abdel-Mawgoud *et al.*, 2010). Os biossurfactantes glicolipídicos internos são caracterizados com base na estrutura da fração carboidrato

que possuem, sendo os ramnolipídeos, trealolipídeos, lipídios manosileritritol e soforolipídios as subclasses mais investigadas.

Os ramnolipídeos compreendem um ou dois ácidos graxos ligados a uma ou duas moléculas de açúcar de ramnose. O principal produtor de ramnolipídeos é a bactéria Gram-negativa *Pseudomonas aeruginosa*, embora pesquisas posteriores mostraram que outras espécies de bactérias estão produzindo ativamente biossurfactantes do tipo ramnolipídeos (Twigg *et al.*, 2018). Os tipos de ramnolipídeos produzidos dependerão da cepa, da fonte de carbono utilizada e das condições de cultivo. Os ramnolipídeos constituem uma das classes mais interessantes de biossurfactantes devido às suas características. Diversos materiais renováveis, como óleos usados ou resíduos da indústria alimentícia, podem ser utilizados como fontes de carbono para a produção dessas biomoléculas. Os ramnolipídeos são capazes de reduzir a tensão superficial água/ar de 72 mN/m para valores próximos a 30 mN/m, bem como a tensão de interface água/óleo de 43 mN/m para valores em torno de 1mN/m. A CMC (Concentração micelar crítica) de ramnolipídeos puros e suas misturas depende em grande parte da composição química das várias espécies e varia de 50 a 200 mg/L (Santos *et al.*, 2016).

Os soforolipídios consistem em uma soforose conectada por ligações  $\beta$ -1,2 e um ácido graxo (hidroxila de cadeia longa) conectado por uma ligação glicosídica. Esses surfactantes são geralmente sintetizados por leveduras como *Starmerella bombicola* (Rawat *et al.*, 2020). A tensão superficial dessas biomoléculas apresenta valores em torno de 33 mN/m e tensão interfacial de 5 mN/m em n-hexadecano e água. A *Starmerella bombicola* é considerada uma das linhagens mais produtivas, sendo capaz de produzir grandes quantidades de soforolipídios (em média 300 g/L) (Fei *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2019).

Os trealolipídeos contêm dissacarídeos de trealose associados a um ácido graxo (ácido micólico), possuem alta diversidade estrutural e são produzidos principalmente por espécies dos gêneros *Rhodococcus*, *Nocardia*, *Mycobacterium* e *Corynebacterium* (Rawat *et al.*, 2020). Trealolipídios de *Arthrobacter* spp. e *Rhodococcus erythropolis* são capazes de diminuir as tensões superficiais e interfaciais em caldo de cultura para 25–40 e 1–5 mN/m, respectivamente (Santos *et al.*, 2016).

Os manosileritritol lipídios (MEL) são abundantemente produzidos a partir de óleos vegetais por *Pseudozyma antarctica*. Os MELs são caracterizados pelo açúcar



manose ligado a um ácido graxo e são subdivididos de acordo com o comprimento da cadeia hidrofóbica (ácido graxo) e grau de saturação e/ou acetilação nas posições C4 e C6 do monossacarídeo (Ribeiro *et al.*, 2020).

Outras classes de biossurfactantes de baixa massa molar são os lipopeptídeos, fosfolipídios e surfactantes poliméricos. A bactéria Gram-positiva *Bacillus subtilis* produz um composto chamado Surfactina, um lipopeptídeo cíclico que consiste em sete aminoácidos hidrofóbicos de cadeia longa (13 a 15 carbonos de comprimento e uma mistura de sete aminoácidos como L-asparagina (Asn), L-leucina (Leu), ácido glutâmico (Glu), L-leucina (Leu), L-valina (Val) e duas D-leucinas conectadas via ligação lactona) (Drakontis; Amin, 2020). A surfactina é conhecida por ser um dos biossurfactantes mais potentes relatados. Devido às suas atividades antibacteriana, antiviral e antifúngica, a surfactina é amplamente utilizada em diferentes aplicações. Também atua como um eficiente emulsificante, estabilizador e modificador de superfície na indústria alimentícia (Salek; Euston, 2019). A tensão superficial pode ser reduzida de 72 para 27 mN/m com uma concentração inferior a 5% em volume (Datta *et al.*, 2020) e apresenta baixa CMC sendo, portanto, explorado em diferentes aplicações (Carolin *et al.*, 2021).

Os fosfolipídios são produzidos em grandes quantidades durante o crescimento de bactérias e leveduras em n-alcanos. *Acinetobacter* spp. e *Thiobacillus trioxidans* são conhecidos por sintetizar biossurfactantes fosfolipídicos. Emulsan e liposan são biossurfactantes poliméricos. Esses compostos servem como agentes emulsificantes e podem ser sintetizados por bactérias e leveduras do gênero *Candida* (Rawat *et al.*, 2020; Ribeiro, Guerra, Sarubbo, 2020). A literatura oferece relatos sobre a aplicação do liposan como emulsificante nas indústrias alimentícia e cosmética (Fenibo *et al.*, 2019).

A Tabela 1 apresenta as principais classes de biossurfactantes e suas fontes microbianas.

Tabela 1 - Classes, subclasses e microrganismos produtores de biossurfactantes

| Classe | Subclasses    | Microrganismos                |
|--------|---------------|-------------------------------|
|        |               | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |
|        | Ramnolipídeos | <i>Pseudomonas cepacia</i>    |
|        |               | <i>Pseudomonas</i> spp.       |

|                      |                      |                                                       |
|----------------------|----------------------|-------------------------------------------------------|
| <b>Glicolipídeos</b> |                      | <i>Lysinibacillus sphaericus</i>                      |
|                      |                      | <i>Serratia rubidaea</i>                              |
|                      | Trealolipídeos       | <i>Nocardia farcinica</i>                             |
|                      |                      | <i>Rhodococcus sp.</i>                                |
|                      |                      | <i>C. combicola</i>                                   |
|                      | Soforolipídeos       | <i>Candida sphaerica</i>                              |
|                      |                      | <i>Starmerella bombicola</i>                          |
|                      |                      | <i>Cutaneotrichosporon mucoides</i>                   |
|                      | Lipídeos             |                                                       |
|                      | Manosileritritol     | <i>Pseudozyma aphidis</i>                             |
|                      | Não informado        | <i>Meyerozyma guilliermondii</i>                      |
|                      |                      | <i>Saccharomyces cerevisiae</i>                       |
|                      |                      | <i>Candida utilis</i>                                 |
|                      |                      | <i>Marinobacter hydrocarbonoclasticus</i>             |
|                      |                      |                                                       |
|                      |                      |                                                       |
|                      |                      |                                                       |
| <b>Lipopeptídeos</b> | Surfactina           | <i>Bacillus subtilis</i><br><i>Bacillus nealsonii</i> |
|                      | Lichenisina          | <i>Bacillus licheniformis</i>                         |
|                      | Não informado        | <i>Pseudomonas azotoformans</i>                       |
|                      |                      | <i>Bacillus velezensis</i>                            |
|                      |                      | <i>Bacillus pseudomycooides</i>                       |
|                      | Não informado        | <i>Virgibacillus salarius</i>                         |
|                      |                      | <i>Bacillus cereus</i>                                |
|                      |                      | <i>Bacillus pumilus</i>                               |
|                      |                      | <i>Halomonas sp.</i>                                  |
|                      | <b>Fosfolipídeos</b> | <i>Thiobacillus thiooxidans</i>                       |
|                      |                      | <i>K. pneumoniae</i>                                  |
|                      | Liposan              | <i>Candida lipolytica</i>                             |
|                      | Rufisan              |                                                       |

|                                     |         |                                         |
|-------------------------------------|---------|-----------------------------------------|
| <b>Surfactantes<br/>poliméricos</b> | Emulsan | <i>Acinetobacter iwoffii</i>            |
|                                     | Alasan  | <i>Acinetobacter<br/>radioresistens</i> |

Fonte: Adaptado de Sarubbo et al., (2022).

### 3.4.3.2 Propriedades dos biossurfactantes

Surfactantes sintéticos e biossurfactantes compartilham várias propriedades, como redução da tensão superficial, capacidade de formação de espuma, emulsificação, capacidade de estabilização, solubilidade e detergência. No entanto, os biossurfactantes apresentam algumas propriedades, listadas abaixo, que os tornam mais atraentes do que os seus similares sintéticos (Santos *et al.*, 2016):

- **Atividade de superfície:** como discutido anteriormente, a eficiência de um surfactante é medida por sua CMC. A CMC dos compostos biossurfactantes varia entre 1 e 2000 mg/L; isso muitas vezes depende da estrutura molecular do biossurfactante em questão (Sarubbo *et al.*, 2022). Um biossurfactante com ótima atividade superficial e interfacial é capaz de reduzir a tensão superficial da água de 72 para 30-35 mN/m, e reduzir a tensão interfacial (óleo/água) de 40 para 1 mN/m (Twigg *et al.*, 2021). A maioria dos biossurfactantes tem valores de CMC, e de tensões superficial e interfacial mais baixos em comparação com seus equivalentes sintéticos, tornando-os mais eficientes e eficazes.
- **Tolerância à temperatura, pH e força iônica:** uma ampla gama de biossurfactantes mantém sua eficácia mesmo sob condições adversas. Essas moléculas naturais podem ser usadas em altas temperaturas e dentro de uma faixa de pH de 3 a 12, enquanto também toleram concentrações salinas de até 10% (p/v), enquanto os surfactantes sintéticos são inativados com  $\geq 2\%$  de NaCl (Santos *et al.*, 2016).
- **Especificidade:** a alta diversidade de moléculas, cada uma com sua complexidade e grupos funcionais específicos, confere aos biossurfactantes atividades particulares/específicas. Como surfactantes sintéticos, os biossurfactantes têm a capacidade de se auto agregar e formar micelas. Isso permite que eles tenham estruturas morfologicamente diferentes umas das outras e aumenta sua especificidade. Micelas esféricas, semelhantes a bastonetes e semelhantes a vesículas podem ser formadas pelos biossurfactantes. Esta característica é de

considerável interesse para aplicações nas indústrias alimentícia, cosmética e farmacêutica, bem como na desintoxicação de diferentes poluentes e na desemulsificação de emulsões industriais (Santos *et al.*, 2016).

- Biocompatibilidade e digestibilidade: a composição dos biossurfactantes os torna mais biocompatíveis e biodegradáveis em comparação com seus equivalentes químicos. Estudos descreveram a biodegradabilidade de biossurfactantes sob variações de temperatura, pH e tempo de biodegradação (Rodríguez-Lopez *et al.*, 2020). A presença de biossurfactantes também pode aumentar a biodegradabilidade solubilizando poluentes, como descrito por Silva *et al.* (2018), que simulou um processo de biorremediação em amostras de areia e água do mar. Em ambos os casos, as taxas de degradação do óleo foram superiores a 90% na presença do biossurfactante e da espécie produtora. A literatura também discute o papel dos biossurfactantes para uma melhor biodegradação de óleo de motor de solos contaminados, conforme descrito por Chaprão *et al.* (2018). Em relação à digestibilidade, a natureza química dos biossurfactantes, que inclui principalmente estruturas glicolípídicas e lipotéticas, torna os biossurfactantes importantes compostos para uso nas indústrias farmacêutica, alimentícia e cosmética (Adu *et al.*, 2020). Compostos tensoativos sintéticos são utilizados na remediação e no tratamento de efluentes. Como tal, podem ser liberados em águas residuais industriais. Quando este efluente industrial é lançado (propositalmente ou como resultado de um acidente), em um corpo de água natural, a presença desses surfactantes sintéticos pode representar uma ameaça aos ecossistemas naturais marinhos ou de água doce. O grau de dano causado por este fenômeno varia de acordo com a concentração de surfactante sintético, que aumenta com o tempo. Se as concentrações desses surfactantes liberados no ambiente atingirem altas concentrações, a toxicidade se acumulará nos animais através da cadeia alimentar, atingindo os humanos através do consumo de alimentos (Ivankovic; Hrenovic, 2010). Em contraste, por serem produtos naturais da fermentação microbiana, os biossurfactantes são significativamente menos tóxicos para a flora e fauna aquática e são mais facilmente biodegradados por microrganismos em ambientes aquáticos e solos (Yuan *et al.*, 2014). Essa maior biocompatibilidade é uma propriedade favorável às indústrias que estão substituindo cada vez mais os tensoativos sintéticos por biossurfactantes.

### 3.4.3.3 Fatores que afetam a produção de biossurfactantes

Os biossurfactantes são produzidos por excreção ou adesão às células. O principal papel fisiológico dos biossurfactantes é permitir que os microrganismos cresçam em substratos insolúveis através da redução da tensão superficial entre as fases, tornando o substrato mais disponível para absorção e metabolismo. Diferentes mecanismos de absorção desses substratos são descritos. A absorção direta de hidrocarbonetos dissolvidos na fase aquosa, o contato direto entre células e grandes gotículas de hidrocarbonetos e a interação com gotículas emulsionadas (emulsão) foram descritos. Além da emulsificação da fonte de carbono, os biossurfactantes também estão envolvidos na adesão de células microbianas aos hidrocarbonetos. A adsorção de células de microrganismos a substratos insolúveis e a excreção de compostos surfactantes permitem o crescimento nessas fontes de carbono (Rocha *et al.*, 2019).

A obtenção do rendimento ideal do biossurfactante é um desafio, pois vários fatores exercem influência no crescimento microbiano e no metabolismo durante a produção fermentativa. Encontrar a combinação ideal de substratos para um meio de cultura definido para facilitar a difusão intracelular e a produção de compostos de interesse tem sido objeto de inúmeras investigações (Santos *et al.*, 2016). A fim de obter o rendimento ideal de produção de biossurfactante a partir da cepa de microrganismo selecionada, é importante definir as condições de cultura. Fatores a serem considerados incluem; fontes de carbono e nitrogênio; concentração do substrato lipofílico; micronutrientes; tamanho do inóculo; temperatura; pH; velocidade de aeração e agitação (Twigg *et al.*, 2021). Embora a maioria dos microrganismos produtores de biossurfactantes gerem esses compostos sob condições mais restritivas, a fase de crescimento em que o maior rendimento é alcançado (fase exponencial ou estacionária) também deve ser investigada. Os parâmetros químicos e físicos do processo de fermentação podem ser otimizados usando métodos estatísticos, que proporcionam a oportunidade de estudar os efeitos das interações entre as diferentes variáveis em busca das condições ideais de cultivo para a máxima produção de biossurfactantes com os menores custos possíveis (Brasileiro *et al.*, 2015).

Assim, para produzir biossurfactantes economicamente, a produção precisa ser associada ao processamento *downstream* e explorar alternativas para melhorar sua

produção usando abordagens estatísticas inovadoras (por exemplo, metodologia de superfície), técnicas baseadas em Inteligência Artificial (IA) como Inteligência Neural Artificial acoplada a Algoritmo Genético (ANN-GA), juntamente com o uso de mutantes de bactérias geneticamente modificadas. Cepas microbianas geneticamente modificadas, substratos econômicos, meios otimizados, processo de fermentação aprimorado e o processamento *downstream* e a purificação de produtos finais usando modelos estáticos bem desenvolvidos podem ser soluções biológicas e de engenharia comercialmente viáveis para alcançar a produção econômica de biossurfactantes industriais em larga escala (Ambaye *et al.*, 2021).

#### 3.4.3.4 Recursos naturais renováveis usados na produção de biossurfactantes

A geração de subprodutos agroindustriais está crescendo rapidamente. Em 2019, as atividades industriais de produção de bioetanol, abate de animais, bem como o processamento de mandioca, dendê e leite juntos geraram mais de quatro bilhões de litros de águas residuais (Martinez-Burgos *et al.*, 2021). Urge, portanto, reduzir os impactos causados por esses e outros efluentes, utilizando-os em processos que podem gerar outros produtos. A indústria de produção de alimentos, em particular, deve ser explorada no que diz respeito ao aproveitamento de seus resíduos, efluentes e subprodutos (Santos *et al.*, 2016; Martinez-Burgos *et al.*, 2021). A produção de biossurfactantes via fermentação microbiana pode ser alcançada usando muitos desses resíduos industriais. Estudos demonstraram que os biossurfactantes podem ser produzidos a partir de uma variedade de substratos, incluindo misturas hidrofóbicas, solventes, hidrocarbonetos, óleos vegetais, produtos lácteos e resíduos cervejeiros. A literatura descreve uma série de produtos residuais empregados na produção de biossurfactantes, como óleos vegetais, efluentes oleosos, efluentes amiláceos, gordura animal, gordura vegetal, resíduos de óleo de cozinha vegetal, sabão em pó, melaço, resíduos da indústria de laticínios (soro), licor de maceração de milho (milhocina), mandioca, efluentes de farinha, resíduos de destilaria de petróleo e glicerol (Santos *et al.*, 2016).

O aumento dos custos de produção associados aos biossurfactantes em comparação com seus equivalentes sintéticos pode ser mitigado pelo uso de matérias-primas de baixo custo derivadas de outros processos industriais (Jimoh; Lin, 2019). De fato, a implementação da produção de biossurfactantes em escala industrial pode

se tornar economicamente viável com o uso de subprodutos agroindustriais (Santos *et al.*, 2016). É importante que matérias-primas de baixo custo obtidas de outros processos industriais atendam às necessidades nutricionais dos microrganismos, oferecendo um equilíbrio adequado de carboidratos e lipídios para o funcionamento do metabolismo microbiano, garantindo o sucesso da produção do biossurfactante de interesse. Matérias-primas que fornecem esse equilíbrio e contenham quantidades significativas de outros micronutrientes, como magnésio, manganês, fósforo, ferro e enxofre, podem reduzir ainda mais o custo de produção do biossurfactante. Além dos aspectos nutricionais, a disponibilidade de resíduos, transporte, custos de armazenamento, necessidade de pré-tratamento, grau de pureza e estado físico dos resíduos devem ser considerados para orientar a seleção dos componentes mais adequados para a produção. Como cada matéria-prima possui suas particularidades, a atividade de cada microrganismo ocorre de forma específica, o que explica o fato de uma mesma matéria-prima ser adequada para a produção de um biossurfactante eficaz por um microrganismo, mas não por outro (Vieira *et al.*, 2012).

A reutilização de resíduos industriais na produção de compostos valiosos tem assumido uma grande importância nos últimos tempos, não só na economia de qualquer processo produtivo comercial, mas também na gestão de resíduos. Por outro lado, a utilização de resíduos industriais não pode ser sustentada apenas pelo baixo custo dessas matérias-primas, pois deve-se considerar a estabilidade, disponibilidade e variabilidade de cada componente. A variabilidade, em particular, representa uma grande limitação para o uso e a nível industrial, uma vez que as estruturas e propriedades das biomoléculas devem permanecer constantes e bem definidas, parâmetros que nem sempre podem ser garantidos a partir do uso desses substratos.

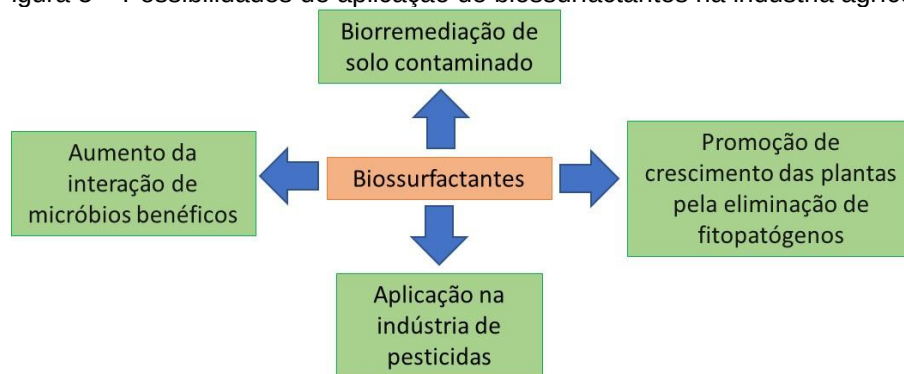
### 3.5 APLICAÇÃO DE BIOSURFACTANTES NA INDÚSTRIA AGRÍCOLA

Os biossurfactantes podem ser amplamente explorados em áreas relacionadas à agricultura para potencializar a biodegradação de poluentes e melhorar a qualidade do solo agrícola, para a promoção indireta do crescimento de plantas, pois possuem atividade antimicrobiana, e para aumentar a interação benéfica do micróbio autóctone com a planta (Sarubbo *et al.*, 2022). Os biossurfactantes podem substituir os agressivos surfactantes sintéticos atualmente usados nas indústrias de pesticidas, pois eles podem ser utilizados como fonte de carbono por micróbios que habitam o

solo e essa utilização auxilia na remoção dos biossurfactantes do solo (Bailey; Boyetchko; Längle, 2010; Cavalcante *et al.*, 2021; Maldaner *et al.*, 2022; Sachdev; Cameotra, 2013; Shokouhi; Seifi, 2020).

A Figura 5 mostra as possibilidades de aplicação dos biossurfactantes nos setores agrícolas.

Figura 5 – Possibilidades de aplicação de biossurfactantes na indústria agrícola



Fonte: O autor (2022).

### 3.5.1 Adjuvantes na melhoria da qualidade do solo

A produtividade do solo é afetada pela presença de poluentes orgânicos e inorgânicos que conferem estresse abiótico na planta cultivada. Para melhorar a qualidade de solos contaminados por hidrocarbonetos e metais pesados, o processo de biorremediação é indicado. Microrganismos produtores biossurfactantes e/ou biossurfactantes podem ser utilizados para a remoção de hidrocarbonetos, bem como metais pesados (Da Silva *et al.*, 2020). Como os biossurfactantes aumentam a biodisponibilidade e realizam a biodegradação de compostos hidrofóbicos, diferentes tecnologias, como lavagem de solo e tecnologia combinada de limpeza empregando biossurfactantes para remoção eficaz de hidrocarbonetos e metal, respectivamente (Sachdev; Cameotra, 2013).

A utilização de agentes surfactantes vem se tornando uma tecnologia atrativa para a lavagem dos solos, uma vez que os contaminantes hidrofóbicos, em especial, aderem às superfícies das partículas do solo e geralmente apresentam solubilidade reduzida em água. Dessa forma, os surfactantes, em virtude de sua estrutura molecular, podem ser adicionados para solubilizar os contaminantes do solo. Uma grande variedade de surfactantes, por exemplo, surfactantes aniônicos, catiônicos,



zwitteriônicos e não iônicos já foram aplicados para remediação do solo (Mao *et al.*, 2015).

Para implementar com sucesso uma remediação melhorada de solos contaminados com surfactantes, há alguns fatores que devem ser considerados, incluindo o comportamento de adsorção dos surfactantes no solo, a capacidade de solubilização/eluição dos surfactantes nos contaminantes alvo, a toxicidade e a biodegradabilidade de surfactantes. Outros fatores econômicos, como o custo de surfactantes e a extensão do solo contaminado também devem ser considerados. Idealmente, além da forte capacidade de dessorver contaminantes, um surfactante aplicado deve ser eficiente e efetivo, ou seja, possuir uma CMC reduzida e funcionar em pequena dose para soluções de lavagem, a fim de reduzir o custo dos processos de remediação e garantir ainda mais a economia do processo (Mao *et al.*, 2015).

Os biossurfactantes também podem melhorar a degradação de certos inseticidas químicos que são acumulados no solo agrícola (Sachdev; Cameotra, 2013). Há vários relatos que sugerem o papel dos biossurfactantes na melhoria a saúde do solo agrícola pelo processo de remediação do solo. Há relatos de biodegradação de pesticidas suportado por surfactina (Mata-Sandoval *et al.*, 2001) e degradação de hidrocarbonetos suportados por glicolipídios (Awasthi *et al.*, 1999). Foi observado que espécies produtoras de biossurfactantes de *Burkholderia* isoladas de solo contaminado com óleo podem ser candidatas potencial para biorremediação da contaminação por pesticidas (Wattanaphon *et al.*, 2008). Assim, biossurfactantes podem ser aplicados na agricultura para melhorar a qualidade do solo.

Os metais pesados também estão presentes como poluentes no solo. A poluição por metais pesados origina-se do uso excessivo de fungicidas à base de sais metálicos, do esgoto e das técnicas de redução de lodo aplicados nos campos agrícolas. Esses metais pesados servem como micronutrientes essenciais e são necessários para vários processos fisiológicos importantes no metabolismo das plantas. No entanto, podem ser prejudiciais para o crescimento das plantas quando em altas concentrações, causando danos desde às raízes até as folhagens.

Diferentemente dos contaminantes orgânicos no solo, os metais pesados são removidos principalmente do solo por meio de complexação associada a surfactantes e troca iônica (Sarubbo *et al.*, 2015).

A utilidade de surfactantes para a remediação de metais pesados em solos contaminados é baseada principalmente em sua capacidade de formar complexos

com metais. Os surfactantes aniônicos criam complexos com metais formados por ligações iônicas. Essas ligações são normalmente mais fortes do que as ligações do metal com os complexos de solo e o complexo metal-surfactante é desorvido a partir da matriz do solo para a solução do solo, devido à redução da tensão interfacial. Os surfactantes catiônicos, por sua vez, podem substituir os mesmos íons carregados pela competição por algumas, mas não todas, as superfícies carregadas negativamente (troca iônica). Os íons metálicos também podem ser removidos da superfície do solo pelas micelas dos surfactantes (Da Silva *et al.*, 2020; Pacwa-Płociniczak *et al.*, 2011).

De forma mais detalhada, considera-se que a remoção de metais por surfactantes iônicos ocorre na seguinte sequência: (1) sorção do surfactante à superfície do solo e complexação com o metal, (2) destaque do metal do solo para a solução e (3) associação com as micelas do surfactante. Neste caso, os metais pesados ficam presos nas micelas através de interações eletrostáticas, podendo ser facilmente recuperados por técnicas de separação por membranas (Sarubbo *et al.*, 2015). Existem vários relatos a cerca das propriedades de biosurfactantes produzidos por *Pseudomonas* sp, *Bacillus* sp., e *Acinetobacter* sp. para remoção de metais pesados de solo contaminado e da aceleração da biodegradação de pesticidas (Pacwa-Płociniczak *et al.*, 2011). Ramnolipídeos e surfactinas são conhecidos por removerem metais como Ni, Cd, Mg, Mn, Ca, Ba, Li, Cu e Zn do solo (Mulligan; Wang, 2006). Surfactantes sintéticos também são usados para a remoção de compostos orgânicos apolares do solo. No entanto, esses tensoativos são necessários em maior concentração e afetam a biodegradação microbiana (Colores *et al.*, 2000).

### **3.5.2 Adjuvantes na eliminação de patógenos de plantas**

Vários surfactantes microbianos têm atividade antimicrobiana contra patógenos de plantas e, portanto, são considerados moléculas promissoras de biocontrole para uma agricultura sustentável. Uma aplicação agrícola de surfactantes químicos e biosurfactantes também facilita o mecanismo de biocontrole de micróbios promotores de crescimento de plantas, como parasitismo, antibiose, competição, resistência sistêmica induzida e hipovirulência. Os surfactantes são usados na agricultura para aumentar as atividades antagônicas de micróbios e de produtos microbianos (Kim *et al.*, 2004). Vários estudos *in vitro* e *in situ* demonstraram o papel dos surfactantes na

melhoria das atividades inseticidas de outros sistemas (Sachdev; Cameotra, 2013). Surfactantes também já foram usados em combinação com o fungo *Myrothecium verrucaria* para evitar a disseminação e erradicar espécies de plantas daninhas que afetam a produtividade da terra e possuem efeito adverso sobre a biodiversidade (Boyette; Walker; Abbas, 2002). Surfactantes também têm sido usados para inibir a produção de aflatoxinas por *Aspergillus* sp. que infectam culturas de algodão, amendoim e milho durante o armazenamento (Rodriguez; Mahoney, 1994). Assim, os tensoativos (sintéticos e biológicos) desempenham diversos papéis na eliminação de fitopatógenos, direta ou indiretamente, e em diferentes processos relacionados à agricultura.

Isolados de *Pseudomonas* e *Bacillus* produtores de biossurfactante exibiram capacidade de biocontrole do fitopatógenos (Krzyzanowska *et al.*, 2012). Os ramnolipídeos demonstraram inibição de patógenos de plantas que adquiriram resistência a pesticidas químicos comerciais (Vatsa *et al.*, 2010). Alguns estudos também indicaram o potencial inseticida de ramnolipídeos. Kim *et al.* (2011) isolaram um biossurfactante de uma cepa de *Pseudomonas* que demonstrou atividade inseticida contra o pulgão verde do pêssigo (*Myzus Persicae*). A *Pseudomonas putida*, promotora de crescimento de plantas, produz biossurfactantes que podem causar lise de zoósporos do patógeno do pepino (Kruijt *et al.*, 2009). O biossurfactante lipopeptídico produzido por cepas de *Bacillus* apresenta inibição do crescimento de fungos fitopatogênicos como *Fusarium* spp. e *Aspergillus* spp. (Velho *et al.*, 2011). A cepa de *Brevibacillus brevis* HOB1 produziu uma surfactina com forte propriedade antibacteriana e antifúngica que pode ser explorada para o controle de fitopatógenos (Haddad, 2008). As propriedades antifúngicas do biossurfactante produzido por cepas de *Pseudomonas fluorescens* estão bem documentadas na literatura (Nielsen; Sørensen, 2003). O patógeno *Colletotrichum gloeosporioides*, que ataca folhas de mamoeiro, pode ser controlado pelo biossurfactante de *Bacillus subtilis* isolado do solo (Kim *et al.*, 2010). Os exemplos acima provam que os surfactantes verdes do tipo biossurfactantes estão bem documentados na literatura para a promoção do crescimento de plantas em função de seu efeito sobre diversos patógenos. Assim, os surfactantes microbianos são substitutos potenciais para os pesticidas químicos e inseticidas usados atualmente na agricultura. Além dessas propriedades antifitopatogênicas, a adição de biossurfactante também é conhecida por acelerar o processo de compostagem, fornecendo condições favoráveis para o crescimento

microbiano, oferecendo uma vantagem adicional do uso desses surfactantes verdes. Os biossurfactantes que têm propriedades antagonistas contra fitopatógenos também podem afetar a outra flora do sistema. Assim, para construir um surfactante verde potente com especificidade contra os fitopatógenos, a composição química do biossurfactante pode ser variada alterando as estratégias de produção (Sachdev; Cameotra, 2013).

### 3.5.3 Adjuvantes interação de microrganismos vegetais benéficos

Para as rizobactérias fornecerem efeito benéfico às plantas, é muito importante que esses microrganismos interajam com as superfícies das plantas. Fatores microbianos como motilidade, capacidade de formar biofilme na superfície da raiz e liberação de moléculas de *quorum sensing* são necessários para estabelecer associação com a planta. Moléculas de *quorum sensing* como a acil homoserina lactona (AHL) são necessárias para a síntese de compostos antifúngicos pelas rizobactérias. Estudos também indicam que a concentração dessas moléculas é alta na rizosfera em comparação com o solo (solo longe das raízes das plantas), sugerindo o papel das moléculas AHL na capacidade do microrganismo benéfico colonizar a superfície da raiz. Dusane *et al.* (2010) relataram que o biossurfactante ramnolípídeo produzido por *Pseudomonas* spp. regula o processo de *quorum sensing* (comunicação célula a célula). Também é relatado que os biossurfactantes afetam a motilidade dos micro-organismos, bem como na formação de biofilme (Ron; Rosenberg, 2011). Portanto, esses surfactantes verdes são parâmetros importantes para que os micróbios alcancem uma associação benéfica com as raízes das plantas e melhorem o crescimento da planta. Além disso, esses biossurfactantes produzidos por rizobactérias aumentam a biodisponibilidade de moléculas hidrofóbicas que podem servir como nutrientes. Biossurfactantes produzidos por micróbios do solo fornecem molhabilidade ao solo e suportam a distribuição adequada dos fertilizantes químicos no solo, auxiliando assim na promoção do crescimento das plantas (Sachdev; Cameotra, 2013).

### 3.6 POTENCIAL E PERSPECTIVAS DE USO DOS BIOSSURFACTANTES NA INDÚSTRIA AGRÍCOLA

Surfactantes são necessários como adjuvantes com fungicidas, inseticidas e herbicidas, como discutido anteriormente. Os surfactantes sintéticos atualmente utilizados nas indústrias de defensivos agrícolas atuam como emulsificantes, dispersantes e umectantes e aumentam a eficiência dos defensivos. Além disso, esses surfactantes também são usados na formulação de inseticidas na agricultura moderna, uma vez que possuem propriedades defensivas (Rostas; Blassmann, 2009).

Diferentes tipos de tensoativos, como aniônicos, catiônicos, anfotéricos e não iônicos estão sendo usados atualmente em várias indústrias de fabricação de pesticidas. No entanto, é importante notar que os surfactantes presentes nas formulações de agrotóxicos se acumulam no solo e afetam a textura, a cor e o crescimento das plantas. Esses pesticidas nocivos também são lixiviados do solo para as águas subterrâneas (Blackwell, 2000). Resíduos de pesticidas são conhecidos por persistir por anos no solo e se espalham no ar e na água também. Estes ainda permanecem na superfície de frutas e legumes. Além disso, os surfactantes sintéticos são considerados potentes poluentes orgânicos no solo (Petrovic; Barcelo, 2004).

Considerando o efeito adverso dos pesticidas e surfactantes associados aos pesticidas, há necessidade de usar surfactantes ambientalmente seguros para substituir esses surfactantes prejudiciais nas indústrias de pesticidas, evitando assim a poluição ambiental. O uso de bactérias do solo que possam utilizar os surfactantes químicos no solo agrícola como fonte de carbono pode ser outra alternativa para este problema ambiental. Há relato de bactérias pertencentes a *Pseudomonas* sp. e *Burkholderia* sp. Capazes de degradar surfactantes (Nishio *et al.*, 2002). Produtos formulados com o auxílio de biossurfactantes podem ser amplamente utilizados em campos agrícolas. A necessidade das indústrias agroquímicas é desenvolver tecnologias de formulação eficazes para atingir esse objetivo (Sachdev; Cameotra, 2013).

A despeito das propriedades e vantagens dos biossurfactantes, o uso desses adjuvantes biocompatíveis na indústria agrícola e de agroquímicos ainda é limitado. A função exata dos surfactantes como agentes facilitadores do biocontrole ainda não é muito compreendida e necessita de mais investigações. Tais estudos ajudarão a substituir os tensoativos sintéticos, produtos químicos agressivos, pelos surfactantes

verdes. Investimentos para reduzir os custos de produção dos biossurfactantes e viabilizar a aplicação mercadológicas dessas biomoléculas não só na agricultura, mas também em outros setores industriais, são latentes. O uso de resíduos agrícolas para a superprodução de biossurfactantes também requer estudos mais aprofundados. A composição química dos biossurfactantes com potencial de biocontrole também pode ser alterada com mudanças no processo de produção (meio, condições de cultivo etc.). Essa abordagem pode levar à biossíntese de surfactantes altamente específicos para uma determinada aplicação. A prevalência de biossurfactantes e/ou de bactérias produtoras de biossurfactantes na rizosfera é uma indicação positiva do potencial dessas biomoléculas na agricultura sustentável. Poucos gêneros de micro-organismos têm sido explorados na literatura como produtores de biossurfactantes para aplicação agrícola.

Assim as pesquisas na área dos surfactantes verdes devem ser uma prioridade na prevenção dos efeitos adversos provocados pelos surfactantes sintéticos empregados em larga escala em muitos setores comerciais, incluindo as indústrias de agroquímicos. Contribuições conjuntas de várias áreas, como biologia molecular, bioquímica, microbiologia, biologia, ciência ambiental e engenharia são indispensáveis nos avanços tecnológicos para a inserção dessas moléculas verdes no mercado mundial.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 MICRORGANISMO, MANUTENÇÃO E CRESCIMENTO DO INÓCULO

A levedura *Starmerella bombicola* ATCC® 22214™ obtida da *American Type Culture Collection* (ATCC) foi a linhagem utilizada como produtora do biossurfactante. A manutenção da levedura foi realizada em meio *Yeast Mold Ágar* (YMA) a cada 4 semanas. Para obter o inóculo, as células foram ativadas em meio contendo 100 g/L de glicose, 10 g/L de extrato de levedura e 0,1 g/L de ureia a 30°C e 200 rpm por 24 h. O inóculo foi padronizado em 0,5 g/L de células por leitura em 600 nm e correlação com uma curva de biomassa obtida previamente (Hipólito *et al.*, 2020).

### 4.2 PRODUÇÃO DO BIOSSURFACTANTE

O meio de produção do biossurfactante foi produzido pela melhor condição de fermentação obtida por Hipólito *et al.* (2020). A composição foi (g/L): 150 g/L de glicose, 219,5 g/L de ácido oleico e 2,5 g/L de extrato de levedura. A produção do biossurfactante foi realizada em *Erlenmeyer* de 1 L com pH ( $7,0 \pm 0,2$ ) e temperatura controlados (28 °C) por 168 horas com agitação de 200 rpm em *shaker*. O inóculo foi padronizado em 0,5 g/L de células, e as condições foram 200 rpm e 1 vvm. Ao final da fermentação, o líquido metabólico foi centrifugado e o sobrenadante foi submetido à extração.

### 4.3 DETERMINAÇÃO DA TENSÃO SUPERFICIAL

A tensão superficial do biossurfactante foi medida em tensiômetro automático (KSV Sigma 700, Finland) através do método do anel de Du Noüy. A grandeza foi medida através da imersão do anel de platina no líquido metabólico, registrando-se a força requerida para puxá-lo através da interface ar-líquido.

### 4.4 EXTRAÇÃO E ISOLAMENTO DO BIOSSURFACTANTE

O biossurfactante foi extraído e parcialmente purificado por extração líquido-líquido com solvente orgânico. As células foram removidas por centrifugação (10.000

× g, 15 min a 20°C) para obter o líquido metabólico livre de células. O caldo isento de células (L) foi extraído duas vezes com igual volume de acetato de etila e agitado vigorosamente em um funil de separação. A camada aquosa inferior e as camadas superiores de acetato de etila foram recolhidas separadamente. A porção aquosa foi novamente extraída mais duas vezes com acetato de etila. Extratos de acetato de etila foram combinados e o solvente foi evaporado sob vácuo usando um rotaevaporador para obter o biossurfactante bruto junto com óleo residual. O óleo residual foi removido lavando-o três vezes com n-hexano. O biossurfactante bruto foi o produto decantado depois da lavagem com n-hexano (Wadekar *et al.*, 2012). O biossurfactante produzido pela levedura foi submetido a secagem por evaporação e armazenado para a etapa de desenvolvimento das formulações.

#### 4.5 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO MICELAR CRÍTICA (CMC)

A Concentração Micelar Crítica (CMC) do biossurfactante foi medida automaticamente em tensiômetro automático (KSV Sigma 700, Finland) através do método do anel de Du Noüy. A grandeza foi medida através da imersão do anel de platina em diferentes amostras de água ultrapura às quais o surfactante isolado foi gradativamente adicionado até o aparelho atingir uma tensão superficial constante.

#### 4.6 FORMULAÇÃO DOS DEFENSIVOS AGRÍCOLAS NATURAIS

Os óleos essenciais de Capim Limão (*Cymbopogon flexuosus*) e Tea Tree (*Melaleuca alternifolia*) foram obtidos da empresa Bioessência do Brasil LTDA, o óleo de mamona (*Ricinus communis*) foi obtido da empresa Dinâmica do Brasil LTDA e o Ácido Oleico foi obtido da empresa Dinâmica do Brasil LTDA.. As formulações do tipo concentração emulsionável (CE) dos defensivos agrícolas naturais foram preparadas a partir do biossurfactante dissolvido em água destilada na CMC (Concentração Micelar Crítica). Antes de incorporar os óleos essenciais de Capim Limão (*Cymbopogon flexuosus*) e Tea Tree (*Melaleuca alternifolia*), os quais foram obtidos da empresa Bioessência do Brasil LTDA, onde eles já possuem relatos na literatura de propriedades aplicáveis como defensivos agrícolas (Mangalagiri; Panditi; Jeevigunta, 2021). O Neem (*Azadirachta indica*) comercial, o qual foi obtido da empresa vitaplan do Brasil LTDA, foi usado com fins comparativos uma vez que é



utilizado como fungicida em plantas. Óleo de rícino (*Ricinus communis*), o qual foi obtido da empresa Dinâmica do Brasil LTDA, também foi testado e como na produção do biossurfactante possui Ácido Oleico e ele também possuem relatos de eficiência contra fungos ele foi escolhido como um dos componentes das formulações, o Ácido Oleico foi obtido da empresa Dinâmica do Brasil LTDA. A água destilada foi usada como controle. A composição dos formulados testes está descrita na Tabela 2. Todas as formulações líquidas foram preparadas sem aquecimento, com agitação contínua por mais de 5 minutos usando um agitador magnético tipo Vortex até formarem uma única fase. Para manter um número reduzido de tratamentos, apenas a concentração do biossurfactante na CMC foi testada em todas as formulações.

| Tabela 2 – Composição dos biodefensivos agrícolas utilizadas na pesquisa |                                                              |
|--------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|
| Tratamentos                                                              | Composição                                                   |
| T1                                                                       | Biossurfactante* + ácido oleico + água destilada.            |
| T2                                                                       | Biossurfactante* + óleo de Capim Limão + água destilada.     |
| T3                                                                       | Biossurfactante* + óleo de <i>Tea Tree</i> + água destilada. |
| T4                                                                       | Biossurfactante* + óleo de rícino + água destilada.          |
| T5                                                                       | Biossurfactante* + Neem comercial.                           |
| T6                                                                       | Neem comercial                                               |
| T7                                                                       | Água destilada                                               |
| T8                                                                       | Biossurfactante* + Água destilada                            |

\* utilizado na concentração da CMC

Fonte: O autor (2023).

#### 4.7 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIFÚNGICO DOS FORMULADOS

Para esse teste, fungos fitopatogênicos foram isolados por meio da técnica de isolamento direto de frutas (mamão[*Carica papaya* L.], laranja[*Citrus sinensis* (L.) *Osbeck*] e banana[*Musa acuminata* 'Dwarf Cavendish']) e contaminados obtidos de um hortifruti local. Esses fungos foram utilizados para detectar a presença da atividade antifúngica dos agrodefensivos formulados, segundo a composição da Tabela 2.

Os fungos isolados foram cultivados e mantidos em meio de *Potato Dextrose Ágar* (PDA) a 28°C. Para a análise antifúngica, foi adicionado ao meio PDA, contido em diferentes frascos de Erlenmeyer, 1 mL de cada um dos biodefensivos agrícolas formulados. As soluções foram misturadas ao ágar por meio de um agitador magnético

e vertidas em placas de Petri para solidificação. Com as placas já preparadas da etapa anterior, discos de 7 mm dos micélios fúngicos foram transferidos para o meio das placas. Essas foram incubadas a  $28 \pm 2$  °C, por 48 h, até o período de 5 dias. Placas contendo apenas meio PDA e fungos foram usadas como controle.

#### 4.8 DETERMINAÇÃO DA FITOTOXICIDADE DOS FORMULADOS

O método de germinação e crescimento radicular sugerido por Yerushalmi *et al.* (2003) foi realizado utilizando sementes de *Cucumis anguria* (Maxixe). Foram testados os biodefensivos agrícolas formulados segundo a Tabela 2. Os tratamentos foram colocados separadamente em placas de Petri com 10 sementes. As placas foram incubadas por 120 horas a 28°C. O número de sementes germinadas foi então contado e o comprimento das raízes foi medido a partir do ponto de transição do hipocótilo até a extremidade da raiz. O índice de germinação (IG), que é uma das formas mais utilizadas para caracterizar a fitotoxicidade de um composto, foi calculado conforme Equação 1:

$$\%GI = (\% \text{ de germinação de sementes}) \times (\% \text{ do crescimento da raiz}): 100 \quad (1)$$

No qual % de germinação de sementes = (% de germinação do tratamento): (% de germinação no controle) x 100; e % do crescimento da raiz = (crescimento médio no tratamento): (crescimento médio no controle) x 100. As amostras foram analisadas em triplicata.

#### 4.9 AVALIAÇÃO DA GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO EM SEMENTEIRA

O método de germinação e crescimento radicular adaptado de Yerushalmi *et al.* (2003) foi realizado utilizando sementes de *Cucumis anguria* (Maxixe). Nesta análise, foram testados os biodefensivos agrícolas formulados segundo a Tabela 2. Bandejas de cultivo com até 15 células foram preenchidas com substrato balanceado da marca Biomix, totalmente isento de pragas e doenças, com pH equilibrado, pronto para uso na produção de mudas em cultivos orgânicos em geral. A composição do substrato, de acordo com o fabricante, é pó ou fibra de coco, casca de pinus moída e compostada, Biokashi (aditivo orgânico com Macro e Micronutrientes), composto

orgânico fórmula Biomix. Os tratamentos foram colocados separadamente em sementeiras com 3 sementes por célula. As sementes foram incubadas por 7 a 14 dias com luz artificial em ambiente fechado com ciclo de luz de 12/12 h *on/off*.

Após esse período, o número de sementes germinadas foi então contado e o comprimento das raízes medido a partir do ponto de transição do hipocótilo até a extremidade da raiz. O índice de germinação (IG), que é uma das formas mais utilizadas para caracterizar a fitotoxicidade de um composto, foi calculado conforme Equação 1:

$$\%GI = (\% \text{ de germinação de sementes}) \times (\% \text{ do crescimento da raiz}): 100 \quad (1)$$

No qual % de germinação de sementes = (% de germinação do tratamento): (% de germinação no controle) x 100; e % do crescimento da raiz = (crescimento médio no tratamento): (crescimento médio no controle) x 100.

#### 4.10 AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE DE DISPERSÃO (ESPALHAMENTO) DOS FORMULADOS EM SUPERFÍCIE

Para esse teste, foram aplicados 40 µL dos biodefensivos agrícolas segundo a Tabela 2, em um único ponto de folhas de parafina de medidas 50 x 50 mm<sup>2</sup>. As medidas foram realizadas utilizando um paquímetro. As amostras foram em triplicata, e as medidas dos diâmetros dos formulados foram comparadas com o branco (amostra T7).

#### 4.11 TESTE DE VIDA ÚTIL PÓS-COLHEITA

O teste de vida útil pós-colheita ou teste de “*shelf-life*” pós-colheita é realizado para avaliar a capacidade que uma formulação de agroquímicos naturais tem de prolongar a vida útil pós-colheita de produtos vegetais sensíveis, como folhosos. Amostras de áreas sem injúrias de folhas de *Lactuca sativa* var. *capitata* (Alface americana) foram selecionadas e mantidas em placas de Petri, onde receberam o tratamento dos defensivos agrícolas formulados segundo a Tabela 2. Os tratamentos foram pulverizados nas superfícies adaxiais das folhas usando um sistema de pulverização manual. Em seguida, as placas com as folhas cobertas pelos

tratamentos foram armazenadas a 28 °C. A avaliação foi realizada visualmente a cada 24 h, por 3 dias, sendo analisado durante esse intervalo a presença de injúrias nas superfícies das folhas ou não em comparação com o branco (T7).

#### 4.12 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Todos os experimentos foram realizados com pelo menos três repetições. Os dados foram submetidos ao teste de significância de análise de variância (ANOVA) *one-way* e a diferença entre os tratamentos foi comparada pelo teste de *Tukey* ( $p \leq 0,05$ ). Todos os dados são apresentados como médias e desvios padrão utilizando os softwares *Origin 8.0* e *Microsoft Excel*.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 PRODUÇÃO DO BIOSSURFACTANTE

A tensão superficial obtida para o biossurfactante produzido em fermentador foi de 31,0 mN/m. A produção foi realizada conforme Hipólito *et al.* (2020); no entanto, no presente trabalho obteve-se uma produção média de 10 g/L, valor que difere do estudo de Hipólito *et al.* (2020), no qual houve uma produção acima de 50 g/L. Acredita-se que esse fato pode ter ocorrido devido à falta de controladores em tempo real da oxigenação e variação de pH da produção do biossurfactante. Estudos anteriores sobre a síntese do biossurfactante de *Starmerella bombicola* ATCC® 22214™ indicam que o rendimento da produção varia conforme as fontes de carbono, como no trabalho de Yu *et al.*, (2021), onde foi produzido um biossurfactante de *Starmerella bombicola* da palha de milho com rendimento de 27,45 g/L, ou no trabalho de Taowkrue *et al.*, (2024), que descreve um rendimento máximo de 40,82 g/L usando farelo de soja como fonte de carbono a um pH de 4,5 em um biorreator de 5 L.

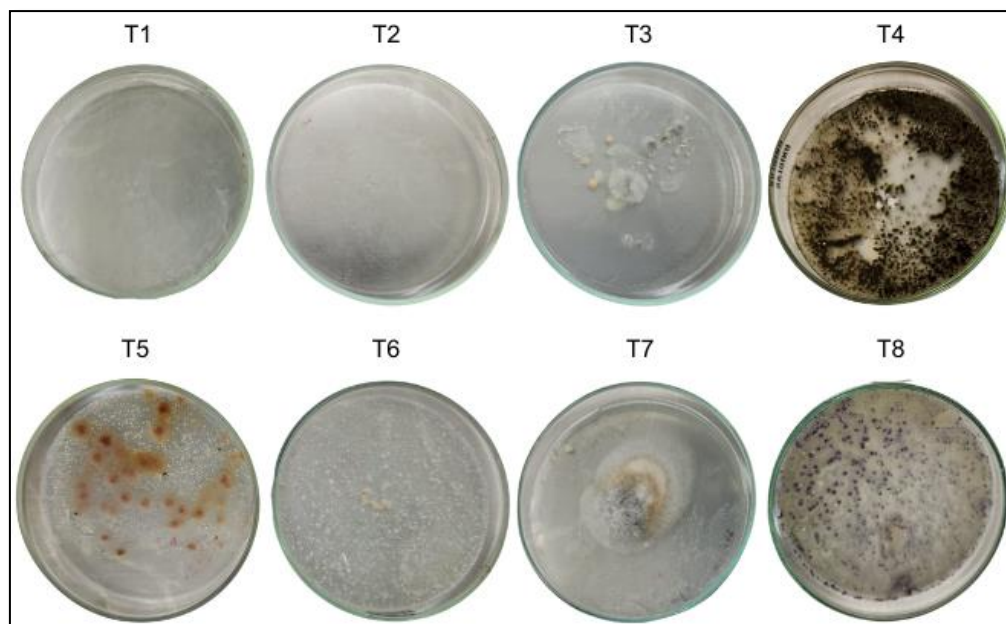
O biossurfactante isolado apresentou uma CMC de 366 mg/L, compatível com valores descritos na literatura (Sarubbo *et al.*, 2022).

### 5.2 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIFÚNGICO DOS FORMULADOS

A Figura 6 apresenta o resultado do potencial de defesa das formulações contra fungos que foram isolados diretamente de espécies de frutos contaminados por fitopatógenos da banana adquiridos do supermercado Mix Mateus Bongi localizado em R. Carlos Gomes, 961 - Bongi, Recife - PE, 50751-130 as 12 horas no dia 2 de janeiro de 2024. Foi possível isolar 3 fungos que visualmente aparentam ser de espécies diferentes. Depois de 5 dias, a análise das placas indicou que as formulações T1 (biossurfactante + ácido oleico) e T2 (biossurfactante + óleo de capim limão) inibiram todos os fungos (Figura 6).

O Capim limão em concentrações de até 1% (v/v) já apresenta capacidade de fungicida acima de 80% (Gao *et al.*, 2020). Segundo o trabalho de Jesus, (2016), o ácido oleico, presente em azeite de oliva e óleo de palma, apresenta ótimas características também como fungicida e bactericida.

Figura 6 – Resultado da avaliação do potencial antifúngico após 5 dias de incubação para as formulações dos bio defensivos agrícolas testadas T1 (biossurfactante + ácido oleico + água destilada), T2 (biossurfactante + óleo de Capim Limão + água destilada), T3 (biossurfactante + óleo de *Tea Tree* + água destilada), T4 (biossurfactante + óleo de rícino + água destilada), T5 (biossurfactante + Neem comercial), T6 (Neem comercial), T7 (água destilada) e T8 (biossurfactante + água destilada)



Fonte: O autor (2024).

Vale ressaltar que não foi realizada uma análise microbiologia para identificar quais fungos se desenvolveram. Visualmente foi possível identificar o crescimento de três tipos de fungos na amostra contendo a formulação T7 os quais iremos usar os códigos F1, F2 e F3 para eles.

O F1 é o fungo que contém as seguintes características: cor inicial branca e ao longo do tempo apresenta a cor vermelhada, levemente aveludado e com pontos de concentração com pequeno crescimento circular, F2 de cor branca aveludado cresce de forma radial e F3 inicialmente branco, que cresce em pequenas colônias e se espalha por todo o espaço e ao longo do tempo vai escurecendo.

Na amostra contendo a formulação T8 (biossurfactante + água destilada), apresentou inibição dos fungos F1 e F2, mas já para o F3 não se teve inibição e ele ainda conseguiu se espalhar por dentro do meio.

A amostra contendo a formulação T6 (Neem comercial), apresentou inibição para o fungo F1 e um retardamento no crescimento dos fungos F2 e F3.

Se colocássemos em um meio as formulações T6 e T8 e elas continuassem com os seus resultados relatados acima, só seria a presença do fungo F3 ou ele teria sido inibido, mas não foi isso que apresentou na prática. Já que a formulação T5

(biossurfactante + Neem comercial) onde seria esta combinação, teve a presença dos fungos F1 bem desenvolvido e o F3 em sua fase inicial, mas com uma grande cobertura de área.

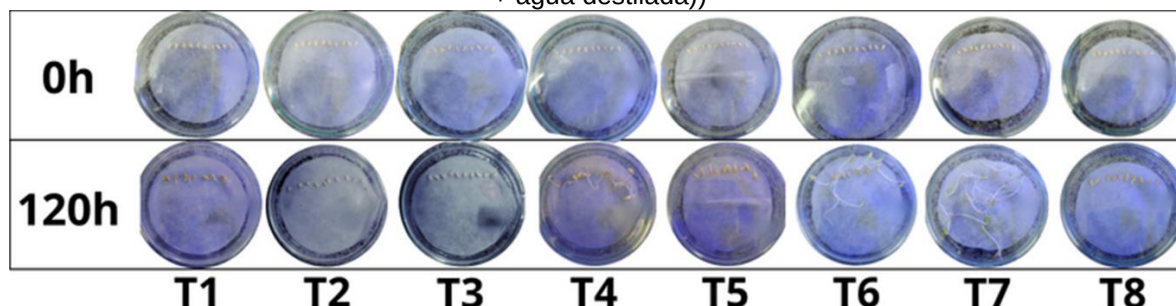
As amostras contendo as formulações T1 (biossurfactante + ácido oleico + água destilada) e T2 (biossurfactante + óleo de Capim Limão + água destilada) não apresentaram crescimento de fungos. Pode-se assim dizer que estas formulações apresentaram um ótimo resultado para o teste, mostrando um alto nível de aplicabilidade como biofungicidas. A amostra contendo a formulação T3 (biossurfactante + óleo de Tea Tree + água destilada) da mesma forma que o Controle (T7) não demonstrou atividade biofungicidas, só uma leve resistência.

Na amostra contendo a formulação T4 (biossurfactante + óleo de rícino + água destilada) teve o crescimento do F3 em seu estágio adulto e o F2 com um crescimento leve e ainda em sua fase inicial, mostrando que possivelmente não seria viável na aplicação como biofungicida.

### 5.3 FITOTOXICIDADE DOS FORMULADOS EM PLACAS

Neste teste foi avaliado se os biodefensivos agrícolas iriam interferir na germinação das sementes de *Cucumis anguria* (Maxixe), isto é, apresentar alguma toxicidade. Nesse teste de fitotoxicidade, de todos os tratamentos formulados, apenas a formulação contendo o biossurfactante com óleo de rícino (T4) apresentou o melhor desempenho na germinação de sementes de maxixe figura 7. De acordo com Bamgbose; Anderson (2015), a aplicação de óleo de rícino em solo argiloso ou arenoso sem nutrientes demonstrou baixa toxidade em cinco espécies de plantas.

Figura 7 – Resultado do teste de fitotoxicidade em semente de *Cucumis anguria* (Maxixe) após 5 dias para as formulações dos biodefensivos agrícolas testadas (T1 (biossurfactante + ácido oleico + água destilada), T2 (biossurfactante + óleo de Capim Limão + água destilada), T3 (biossurfactante + óleo de *Tea Tree* + água destilada), T4 (biossurfactante + óleo de rícino + água destilada), T5 (biossurfactante + Neem comercial), T6 (Neem comercial), T7 (água destilada) e T8 (biossurfactante + água destilada))



Fonte: O autor (2024).

Pode-se verificar, visualmente, que as placas das amostras contendo as formulações T1, T2, T3, T5 e T8 não se desenvolveram quanto à germinação durante o período de análise. Isto fica claro com auxílio das Tabela 3, onde as formulações que possuem valores estatisticamente semelhantes são demonstradas pelo teste de Tukey.

Tabela 3 – Comprimento das raízes de *Cucumis anguria* (Maxixe) em placas de Petri para as formulações dos biodefensivos agrícolas testadas (T1 (biossurfactante + ácido oleico + água destilada), T2 (biossurfactante + óleo de Capim Limão + água destilada), T3 (biossurfactante + óleo de *Tea Tree* + água destilada), T4 (biossurfactante + óleo de rícino + água destilada), T5 (biossurfactante + Neem comercial), T6 (Neem comercial), T7 (água destilada) e T8 (biossurfactante + água destilada))

| Formulação | Nº Sementes | Comprimento das Raízes (mm) |
|------------|-------------|-----------------------------|
| T1         | 10          | $5,0 \pm 3,2^d$             |
| T2         | 10          | $0,0 \pm 0,0^d$             |
| T3         | 10          | $0,0 \pm 0,0^d$             |
| T4         | 10          | $21,4 \pm 14,0^c$           |
| T5         | 10          | $5,0 \pm 1,8^d$             |
| T6         | 10          | $34,8 \pm 26,4^b$           |
| T7         | 10          | $48,3 \pm 15,2^a$           |
| T8         | 10          | $2,4 \pm 2,48^d$            |

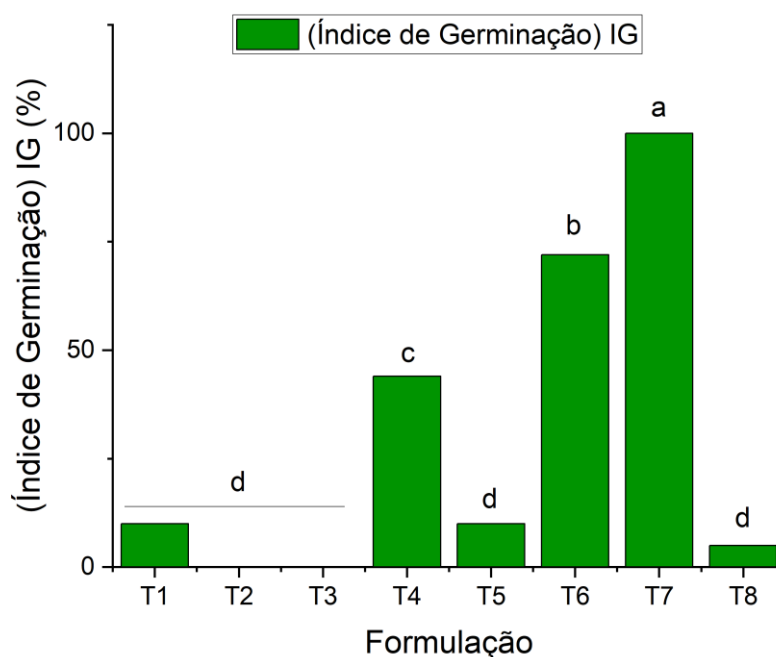
Letras diferentes na mesma linha denotam diferenças significativas ( $p \leq 0,05$ , teste Tukey).

Fonte: Autor, 2024.

As placas contendo as formulações T4 (biossurfactante + óleo de rícino), T6 (óleo de Neem) e T7 (Branco) apresentaram os melhores resultados. No Gráfico 4 pode-se observar os dados desses resultados de forma mais clara.



Gráfico 4 – Determinação do índice de germinação de *Cucumis anguria* (Maxixe) em placa de Petri para as formulações dos bio defensivos agrícolas testadas (T1 (biossurfactante + ácido oleico + água destilada), T2 (biossurfactante + óleo de Capim Limão + água destilada), T3 (biossurfactante + óleo de *Tea Tree* + água destilada), T4 (biossurfactante + óleo de rícino + água destilada), T5 (biossurfactante + Neem comercial), T6 (Neem comercial), T7 (água destilada) e T8 (biossurfactante + água destilada))



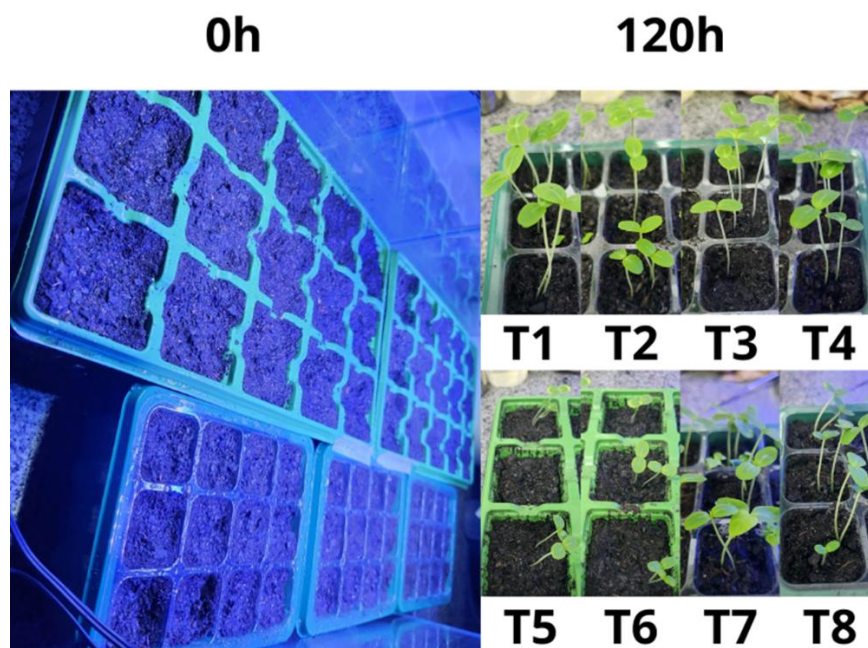
Fonte: O autor (2024).

Ao analisar o índice de germinação (IG), observa-se que nenhuma das amostras apresentou um resultado de germinação em placa superior ao controle (T7 - Branco). No entanto, isso não significa necessariamente que os produtos aplicados sejam tóxicos para as sementes. A minoria das amostras teve mais de 50% de germinação, e a amostra contendo a formulação T4, em especial, apresentou um crescimento próximo da metade do controle. Diante desses resultados, também foi possível observar que é essencial realizar testes de toxicidade com diferentes concentrações para determinar a eficácia, a seletividade e a segurança de uma formulação bio defensiva, fornecendo informações precisas para o desenvolvimento de produtos fitossanitários para aplicações específicas.

#### 5.4 GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO EM SEMENTEIRA

Este teste teve como objetivo identificar se os biodefensivos agrícolas teriam algum tipo de inibição da germinação de *Cucumis anguria* (Maxixe), bem como retardamento ou melhoramento do crescimento da planta pela assimilação de nutrientes presentes no substrato. Como ilustrado na Figura 8, todas as amostras neste teste se desenvolveram.

Figura 8 – Avaliação da germinação e crescimento de *Cucumis anguria* (Maxixe), em sementeira entre 0 e 120 h em solo e em presença de fonte de luz para as formulações dos biodefensivos agrícolas testadas (T1 (biossurfactante + ácido oleico + água destilada), T2 (biossurfactante + óleo de Capim Limão + água destilada), T3 (biossurfactante + óleo de *Tea Tree* + água destilada), T4 (biossurfactante + óleo de rícino + água destilada), T5 (biossurfactante + Neem comercial), T6 (Neem comercial), T7 (água destilada) e T8 (biossurfactante + água destilada))



Fonte: O autor (2024).

Pode-se identificar, visualmente, que algumas sementes se desenvolveram mais do que outras, e as amostras que não se desenvolveram no teste de fitotoxicidade apresentaram ótimos resultados. Diante dos cálculos desenvolvidos (Tabelas 4), é possível identificar quais resultados são estatisticamente diferentes.

Tabela 4 – Comprimento das raízes de *Cucumis anguria* (Maxixe) em sementeiras para as formulações dos biodefensivos agrícolas testadas (T1 (biossurfactante + ácido oleico + água destilada), T2 (biossurfactante + óleo de Capim Limão + água destilada), T3 (biossurfactante + óleo de *Tea Tree* + água destilada), T4 (biossurfactante + óleo de rícino + água destilada), T5 (biossurfactante + Neem comercial), T6 (Neem comercial), T7 (água destilada) e T8 (biossurfactante + água destilada))

| Formulação | Nº Sementeiras | Comprimentos das Raízes (mm) |
|------------|----------------|------------------------------|
| T1         | 3              | 60,98±1,78 <sup>b,c</sup>    |
| T2         | 3              | 50,29±0,50 <sup>d</sup>      |
| T3         | 3              | 74,42±3,79 <sup>a</sup>      |
| T4         | 3              | 59,27±2,83 <sup>c</sup>      |
| T5         | 3              | 63,96±1,91 <sup>b</sup>      |
| T6         | 3              | 58,13±0,51 <sup>c</sup>      |
| T7         | 3              | 40,21±2,14 <sup>e</sup>      |
| T8         | 3              | 57,64±0,84 <sup>c</sup>      |

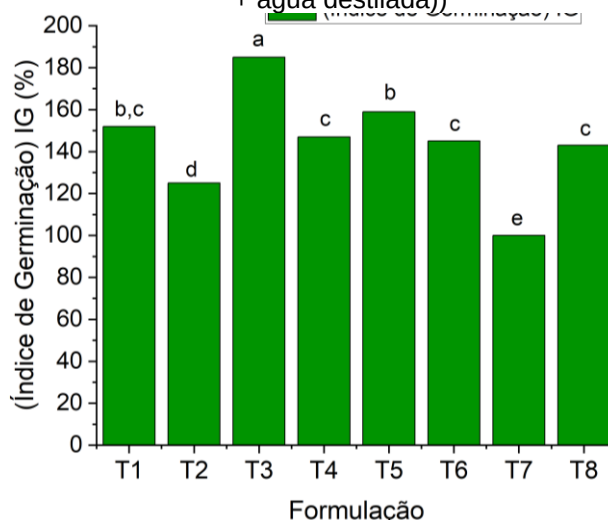
Letras diferentes na mesma linha denotam diferenças significativas ( $p \leq 0,05$ , teste *Tukey*).

Fonte: Autor, 2024.

Com o teste de *Tukey* observa-se que as amostras contendo as formulações T1 e T5 são estatisticamente iguais, e formulações T1,T4, T6 e T8 também são estatisticamente iguais.

Os resultados obtidos para o índice de germinação em sementeiras estão ilustrados no Gráfico 5.

Gráfico 5 – Determinação do índice de germinação de *Cucumis anguria* (Maxixe) em sementeira para as formulações dos biodefensivos agrícolas testadas (T1 (biossurfactante + ácido oleico + água destilada), T2 (biossurfactante + óleo de Capim Limão + água destilada), T3 (biossurfactante + óleo de *Tea Tree* + água destilada), T4 (biossurfactante + óleo de rícino + água destilada), T5 (biossurfactante + Neem comercial), T6 (Neem comercial), T7 (água destilada) e T8 (biossurfactante + água destilada))



Fonte: O autor (2024).

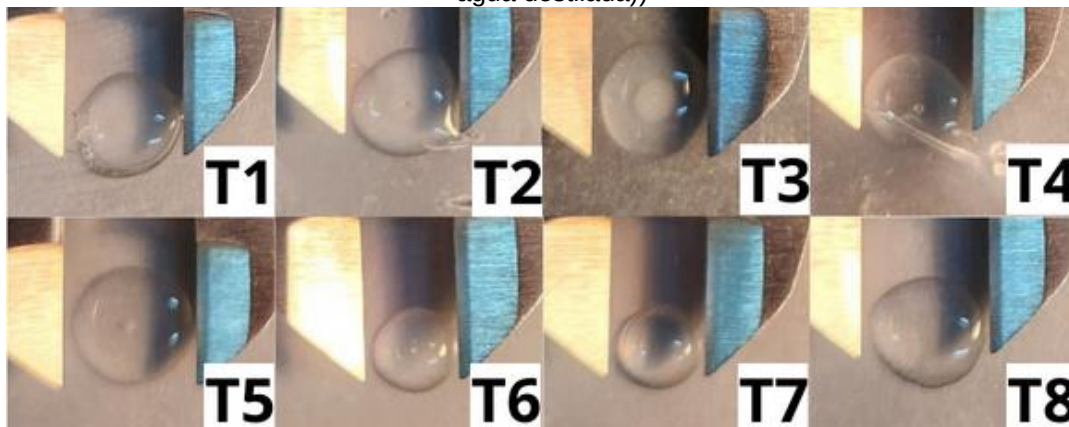
Neste caso, o índice de germinação mostra que todos os tratamentos (defensivos agrícolas formulados) utilizados tiveram resultados melhores do que o tratamento com o branco (formulação T7), ou seja, os biodefensivos agrícolas formulados chegaram a apresentar resultados de desenvolvimento acima de 80% em relação ao Branco, mostrando um alto potencial de agregamento de nutriente e contribuição para a germinação das sementes.

Se as avaliações dos itens 5.3 e 5.4 forem correlacionadas, é possível observar que os defensivos agrícolas formulados T2 (óleo de capim limão + biossurfactante + água) e T3 (óleo de *Tea Tree* + biossurfactante + água) dificultaram a germinação das sementes em placas de Petri onde não estava presente nenhum nutriente a mais, ou seja, eles não foram favoráveis para a planta. Por outro lado, quando foram aplicados em solo contendo nutrientes, o resultado foi bem significativo, principalmente para o formulado T3, já que ele teve um rendimento ainda melhor que o formulado T8 (biossurfactante + água). Estes resultados também demonstram que os produtos aplicados em condições reais provavelmente não serão tóxicos para as plantas e funcionarão como aditivos para melhorar a assimilação dos nutrientes do solo. Para confirmar essas indagações, se fazem necessários testes bioquímicos como caracterizações físico-químicas de proteínas totais e atividade das enzimas peroxidase e polifenol oxidase, dentre outros.

## 5.5 CAPACIDADE DE DISPERSÃO (ESPALHAMENTO) DOS FORMULADOS

Avaliação da capacidade de dispersão serve para indicar qual das formulações de biodefensivos agrícolas teria a melhor cobertura de área superficial das plantas quando aplicado como fungicida. Na Figura 9, é apresentado o procedimento de medição do raio para verificação do espalhamento de um volume conhecido disperso sobre a folha de parafina.

Figura 9 – Procedimento de medição do diâmetro do espalhamento de um volume de 40  $\mu$ L dos biodefensivos agrícolas em folha de parafina testados (T1 (biossurfactante + ácido oleico + água destilada), T2 (biossurfactante + óleo de Capim Limão + água destilada), T3 (biossurfactante + óleo de *Tea Tree* + água destilada), T4 (biossurfactante + óleo de rícino + água destilada), T5 (biossurfactante + Neem comercial), T6 (Neem comercial), T7 (água destilada) e T8 (biossurfactante + água destilada))



Fonte: O autor (2024).

Para determinar a capacidade de dispersão da gota foi utilizado um paquímetro digital para a medição do diâmetro (Tabelas 5).

Tabela 5 – Avaliação da capacidade de dispersão (espalhamento) para as formulações dos biodefensivos agrícolas testadas (T1 (biossurfactante + ácido oleico + água destilada), T2 (biossurfactante + óleo de Capim Limão + água destilada), T3 (biossurfactante + óleo de *Tea Tree* + água destilada), T4 (biossurfactante + óleo de rícino + água destilada), T5 (biossurfactante + Neem comercial), T6 (Neem comercial), T7 (água destilada) e T8 (biossurfactante + água destilada))

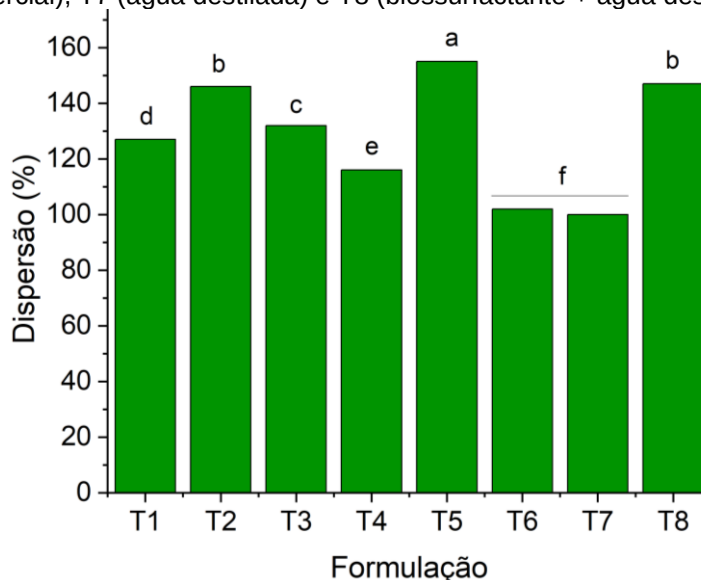
| Formulação | Nº Testes | Diâmetro da gota (mm) |
|------------|-----------|-----------------------|
| T1         | 3         | $8,20 \pm 0,13^d$     |
| T2         | 3         | $9,44 \pm 0,18^b$     |
| T3         | 3         | $8,55 \pm 0,11^c$     |
| T4         | 3         | $7,52 \pm 0,17^e$     |
| T5         | 3         | $10,04 \pm 0,17^a$    |
| T6         | 3         | $6,58 \pm 0,13^f$     |
| T7         | 3         | $6,46 \pm 0,29^f$     |
| T8         | 3         | $9,50 \pm 0,14^b$     |

Letras diferentes na mesma linha denotam diferenças significativas ( $p \leq 0,05$ , teste *Tukey*).

Fonte: Autor, 2024.

Após aplicação do teste de *Tukey*, tem-se que os formulados T6 e T7 são estatisticamente iguais em sua dispersão e os formulados T2 e T8 também são estatisticamente iguais entre si. A partir destas determinações foi gerado o Gráfico 6, a qual representa de forma gráfica os valores percentuais em relação ao T7 obtidos do teste de dispersão.

Gráfico 6 – Percentual de dispersão para as formulações dos biodefensivos agrícolas testadas em relação ao Branco (T1 (biossurfactante + ácido oleico + água destilada), T2 (biossurfactante + óleo de Capim Limão + água destilada), T3 (biossurfactante + óleo de *Tea Tree* + água destilada), T4 (biossurfactante + óleo de rícino + água destilada), T5 (biossurfactante + Neem comercial), T6 (Neem comercial), T7 (água destilada) e T8 (biossurfactante + água destilada))



Fonte: Autor, 2024.

No Gráfico 6, todos os formulados tiveram uma capacidade de espalhamento melhor do que o Branco (formulado T7) ou mesmo que o produto comercial (formulado T6). Isso ocorreu devido ao fato de que todos os produtos desenvolvidos possuem uma substância tensoativa, que nesse caso é o biossurfactante. Entretanto, pode-se observar que os melhores resultados foram obtidos para as formulações T2, T3, T5 e T8. Como o formulado T5 é o produto comercial, que já tem em sua composição emulsificantes, os quais não são informados no seu rótulo, com a adição do biossurfactante foi possível conseguir um resultado ainda melhor neste teste, embora com diferenças mínimas em relação à formulação T8, constituída pelo biossurfactante diluído.

O maior espalhamento de um defensivo agrícola está diretamente ligado a necessidade da utilização de mais ou menos do produto, e a utilização de um biossurfactante para diminuir a tensão superficial do líquido ajudará a alcançar este espalhamento maior, promovendo consecutivamente uma área de cobertura maior. Esse efeito do biossurfactante está diretamente relacionado à eficiência do tratamento (Lin *et al.*, 2016; Rizzatto, 2022).



## 5.6 TESTE DE VIDA ÚTIL PÓS-COLHEITA

Esse teste teve como objetivo avaliar a possibilidade dos bio defensivos agrícolas formulados protegerem ou agredirem de alguma forma produtos sensíveis, aumentando ou diminuindo o seu tempo de prateleira. Na Figura 10 é apresentado o resultado desse teste obtido para as folhas de *Lactuca sativa var. capitata* (Alface americana) por meio de avaliação visual.

Figura 10 – Resultado do teste de vida útil pós-colheita para as folhas de *Lactuca sativa var. capitata* (Alface americana) entre 0 e 72 h para as formulações dos bio defensivos agrícolas testadas (T1 (biossurfactante + ácido oleico + água destilada), T2 (biossurfactante + óleo de Capim Limão + água destilada), T3 (biossurfactante + óleo de *Tea Tree* + água destilada), T4 (biossurfactante + óleo de rícino + água destilada), T5 (biossurfactante + Neem comercial), T6 (Neem comercial), T7 (água destilada) e T8 (biossurfactante + água destilada))



Fonte: Autor, 2024.

As folhas de *Lactuca sativa var. capitata* (alface americana) foram utilizadas em função da sensibilidade e da rápida absorção de água na sua superfície, que levam este vegetal à rápida deterioração nos locais de venda,

É possível notar que a única formulação que não apresentou nenhum tipo de injúria foi a T7 (água destilada), seguida da formulação T6, que provocou menor dano em relação às demais. Nota-se que essas são as únicas amostras nas quais o biossurfactante não está presente. Desta forma, é possível inferir que a presença do biossurfactante na concentração testada acelerou o processo de deterioração do vegetal, mesmo em presença dos óleos. Pelas imagens, apenas o óleo de rícino conseguiu reduzir o impacto causado pelo biossurfactante. Em contrapartida, o óleo de Neem com o biossurfactante (T5) intensificou essa deterioração, o que não ocorreu com o óleo de Neem sem o biossurfactante (T6).

Nesses testes, é importante investigar quais componentes da formulação podem estar contribuindo para a aceleração da degradação do vegetal. Isso pode incluir a análise dos ingredientes ativos, adjuvantes e outros componentes presentes

na formulação (Allai *et al.*, 2023). Portanto, as formulações que mesmo contendo biossurfactante poderiam ter a composição ajustada para realização de novos testes seriam a T2 (óleo de capim limão), T3 (óleo de *Tea Tree*) e T4 (óleo de rícino). Diante dos resultados aqui obtidos, discussões sobre a possível interação entre esses componentes e o vegetal, bem como seus efeitos individuais e combinados na deterioração dos alimentos, podem fornecer *insights* valiosos para futuras melhorias na formulação. A repetição dos testes com diferentes frutos e hortaliças também pode fornecer resultados mais expressivos e significativos, com indicações do uso destas formulações em produtos específicos.



## 6 CONCLUSÃO

O soforolipídio da linhagem *Starmerella bombicola* foi obtido por fermentação empregando glicose e ácido oleico e aplicado como ativo e/ou adjuvante em formulações agro defensivas em presença de outros defensivos verdes. Tais formulações foram desenvolvidas com a finalidade de melhorar a germinação, a dispersão de ativos na superfície das folhas, a conservação pós-colheita de produtos vegetais, a ação contra fitopatógenos e fitotoxicidade.

As formulações resultaram em diferentes possibilidades de aplicação, indicando que a utilização de soforolipídio como agrodefensivo junto com outros ativos naturais pode influenciar no comportamento já relatado pela literatura dos outros compostos naturais, tanto melhorando seus efeitos quanto inibindo-os. Desta forma, todos os formulados desenvolvidos apresentaram potencial para algum tipo de aplicação; o formulado T1 (ácido oleico + biossurfactante) e o T2 (óleo de capim limão + biossurfactante), por exemplo, apresentaram um ótimo potencial para aplicação como fungicidas, uma vez que inibiram o crescimento dos fungos presentes nas frutas testadas nesse trabalho. O formulado T3 (óleo de *Tea Tree* + biossurfactante) tem um potencial para uso como aditivo em solo e pode contribuir para o crescimento vegetal. Já o formulado T4 (óleo de rícino + biossurfactante) foi um ótimo aditivo para o solo também, uma vez que apresentou uma ótima resposta no teste de germinação em solo e toxicidade reduzida. O formulado T5 (óleo de Neem + biossurfactante), por sua vez, não mostrou resultados promissores nas condições aqui testadas.

Conclui-se que a combinação de biossurfactantes com outros agentes pode aprimorar a interação entre plantas e nutrientes do solo, além de melhorar as propriedades do solo. Isso pode resultar em um controle mais eficaz de doenças e, consequentemente, em uma melhoria geral na saúde e no rendimento das plantas, contribuindo para maximizar os ganhos na lavoura.

Para projetos futuros, pretende-se produzir biossurfactantes em outras condições, realizar testes de viscosidade, estabilidade e potencial zeta. Aplicar biossurfactantes de outras origens, bem como surfactante de base natural. Realizar um planejamento fatorial para analisar as formulações em diferentes concentrações e testar em outros tipos de frutos e hortaliças.

## REFERÊNCIAS

- ABDEL-MAWGOUD, A.M.; LEPINE, F.; DEZIEL, E. Rhamnolipids: diversity of structures, microbial origins and roles. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 86, p. 1323–1336, 2010.
- ADU, S.A.; NAUGHTON, P.J.; MARCHANT, R.; BANAT, I.M. Microbial biosurfactants in cosmetic and personal skincare pharmaceutical formulations. **Pharmaceutics**, v. 12, p. 1–21, 2020.
- AGRONOTIPS. **Fungos entomopatômicos (HEP) para controle do inseto pintado(Bagrada Hilaris)**. AGRONOTIPS, 15 jul. 2019. Disponível em: <https://www.portalfruticola.com/noticias/2019/07/15/hongos-entomopatogenos-hep-para-control-de-la-chinche-pintada-bagrada-hilaris/>. Acessado on: 20 out. 2022.
- ALLAI, F.M.; AZAD, Z.R.A.A.; MIR, N.A.; GUL, K. Recent advances in non-thermal processing technologies for enhancing shelf life and improving food safety. **Applied Food Research**, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.afres.2022.100258>.
- AMBAYE, T.G.; VACCARI, M.; PRASAD, S.; RTIMI, S. Preparation, characterization and application of biosurfactant in various industries: a critical review on progress, challenges and perspectives. **Environmental Technology and Innovation**, v. 24, 102090, 2021.
- ARTHURS, S.; DARA, S.K. Microbial biopesticides for invertebrate pests and their markets in the United States. **Journal of Invertebrate Pathology**, vol. 165, p. 13–21, 1 jul. 2019. <https://doi.org/10.1016/J.JIP.2018.01.008>. Acessado on: 28 jun. 2022.
- AWASTHI, N.; KUMAR, A.; MAKKAR, R.; CAMEOTRA, S.S. Biodegradation of soil-applied endosulfan in the presence of a biosurfactant. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, 34:5, 793-803, 1999. <https://doi.org/10.1080/03601239909373226>.
- BAILEY, K.L.; BOYETCHKO, S.M.; LÄNGLE, T. Social and economic drivers shaping the future of biological control: A Canadian perspective on the factors affecting the development and use of microbial biopesticides. **Biological Control**, vol. 52, no 3, p. 221–229, 1 mar. 2010. <https://doi.org/10.1016/J.BIOCONTROL.2009.05.003>. Acessado on: 20 out. 2022.
- BAMGBOSE, I.; ANDERSON, T.A. Phytotoxicity of three plant-based biodiesels, unmodified castor oil, and Diesel fuel to alfalfa (*Medicago sativa* L.), lettuce (*Lactuca sativa* L.), radish (*Raphanus sativus*), and wheatgrass (*Triticum aestivum*). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.08.003>.
- BAPAT, M.S.; SINGH, H.; SHUKLA, S.K.; SINGH, P.P.; VO, D.V.N.; YADAV, A.; GOYAL, A.; SHARMA, A.; KUMAR, D. Evaluating green silver nanoparticles as prospective biopesticides: An environmental standpoint. **Chemosphere**, vol. 286, p.

131761, 1 jan. 2022. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2021.131761>.  
Acessado on: 28 jun. 2022.

BLACKWELL, PS. Management of water repellency in Australia and risks associated with preferential flow, pesticide concentration and leaching. **Journal of Hydrology**, v. 231–232, p. 384–395, 2000.

BOYETTE, C.D.; WALKER, H.L.; ABBAS, H.K. Biological control of kudzu (*Pueraria lobata*); with an isolate of *Myrothecium verrucaria*. **Biocontrol Science and Technology**, v. 12, p. 75–82, 2002.

BRAR, S.K.; VERMA, M.; TYAGI, R.D.; VALÉRO, J.R. Recent advances in downstream processing and formulations of *Bacillus thuringiensis* based biopesticides. **Process Biochemistry**, vol. 41, no 2, p. 323–342, 1 fev. 2006.  
<https://doi.org/10.1016/J.PROCBIO.2005.07.015>. Acessado on: 28 jun. 2022.

BRASILEIRO, P.P.F.; DE ALMEIDA, D.G.; DE LUNA J.M.; RUFINO, R.D.; DOS SANTOS, V.A.; SARUBBO L.A. Optimization of biosurfactant production from *Candida guilliermondii* using a rotate central composed design. **Chemical Engineering Transactions**, v. 43, p. 1411–1416, 2015.

CALISTA, N.; HAIKAEL, M.D.; ATHANASIA, M.O.; NEEMA, K.; JUDITH, K. Does Pesticide exposure contribute to the growing burden of non - communicable diseases in Tanzania. **Scientific African**, vol. 17, p. e01276, 1 set. 2022.  
<https://doi.org/10.1016/J.SCIAF.2022.E01276>. Acessado on: 20 out. 2022.

CAMPANHOLA, C.; BETTIOL, W. Métodos Alternativos de Controle Fitossanitário. **EMBRAPA**, 2003.

CANAL AGRO. Conheça como são aplicados os 5 principais agrotóxicos no Brasil. **Canal Agro**, 16 dez. 2021. Disponível em:  
<https://summitagro.estadao.com.br/noticias-do-campo/conheca-como-sao-aplicados-os-5-principais-agrotoxicos-no-brasil/#:~:text=O%20Brasil%20consome%20mais%20de%20um%20milh%C3%A3o%20de,segundo%20dados%20do%20Instituto%20Nacional%20de%20C%C3%A2ncer%20%28Inca%29>. Acessado on: 21 out. 2022.

CAROLIN, F.; KUMAR, C.P.S.; NGUEAGNI, P.T. A review on new aspects of lipopeptide biosurfactant: types, production, properties and its application in the bioremediation process. **Journal of Hazardous Materials**, v. 407, 124827, 2021.

CASTRO, M.J.L.; OJEDA, C.; CIRELLI, A.F. Advances in surfactants for agrochemicals. **Environmental Chemistry Letters**, v. 12, n. 1, p. 85–95, 6 mar. 2014.

CAVALCANTE, B.D.M.; SCAPINI, T.; CAMARGO, A.F.; ULRICH, A.; BONATTO, C.; DALASTRA, C.; MOSSI, A.J.; FONGARO, G.; DI PIERO, R.M.; TREICHEL, H. Orange peels and shrimp shell used in a fermentation process to produce an aqueous extract with bioherbicide potential to weed control. **Biocatalysis and**

**Agricultural Biotechnology**, vol. 32, p. 101947, 1 mar. 2021.  
<https://doi.org/10.1016/J.BCAB.2021.101947>. Acessado on: 20 out. 2022.

CHAPRÃO, M.J.; DA SILVA, R.C.F.S.; RUFINO R.D.; LUNA, J.M.; SANTOS, V.A.; SARUBBO L.A. Production of a biosurfactant from *Bacillus methylotrophicus* UCP1616 for use in the bioremediation of oil-contaminated environments. **Ecotoxicology**, v. 27, p. 1310–1322, 2018.

COLORES, G.M.; MACUR, R.E.; WARD, D.M.; INSKEEP, W.P. Molecular Analysis of Surfactant-Driven Microbial Population Shifts in Hydrocarbon-Contaminated Soil. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 66, n. 7, p. 2959, jul. 2000.  
<https://doi.org/10.1128/AEM.66.7.2959-2964.2000>.

CUNHA, J.P.A.R.; ALVES, G.A.; MARQUES, R.S. Tensão superficial, potencial hidrogeniônico e condutividade elétrica de caldas de produtos fitossanitários e adjuvantes. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.48, n.2, p.261-270, 2017.

DA SILVA, R.C.F.S.; DE ALMEIDA, D.G.; BRASILEIRO, P.P.F.; RUFINO, R.D.; LUNA, J.M.; SARUBBO, L.A. Production, formulation and cost estimation of a commercial biosurfactant. **Biodegradation**, vol. 30, no 4, p. 191–201, 2019.  
<https://doi.org/10.1007/s10532-018-9830-4>.

DA SILVA I.G.S.; DE ALMEIDA F.C.G.; SILVA N.M.P.R.; CASAZZA A.A.; CONVERTI A.; SARUBBO L.A. Soil Bioremediation: Overview of Technologies and Trends. **Energies**, 2020. <https://doi.org/10.3390/en13184664>.

DA SILVA, M.G.C.; SARUBBO, L.A. Synthetic and biological surfactants used to mitigate biofouling on industrial facilities surfaces. **Biointerface Research in Applied Chemistry**, vol. 12, no 2, p. 2560–2585, 2022.  
<https://doi.org/10.33263/BRIAC122.25602585>.

DATTA, P.; TIWARI, P.; PANDEY, L.M. Oil washing proficiency of biosurfactant produced by isolated *Bacillus tequilensis* MK 729017 from Assam reservoir soil. **Journal of Petroleum Science and Engineering**, v. 195, 107612, 2020.

DE ALMEIDA, D.G.; SILVA, R.C. F.S.; LUNA, J.M.; RUFINO, R.D.; SANTOS, V.A.; BANAT, I.M.; SARUBBO, L.A. Biosurfactants: Promising molecules for petroleum biotechnology advances. **Frontiers in Microbiology**, vol. 7, no OCT, p. 1–14, 2016.  
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01718>.

DE ALMEIDA, D.G.; DA SILVA, M.G.C.; BARBOSA, R.N.; SILVA, D.S.P.; DA SILVA, R.O.; LIMA, G.M.S.; DE GUSMÃO, N.B.; SOUZA, M.F.V.Q. Biodegradation of marine fuel MF-380 by microbial consortium isolated from seawater near the petrochemical Suape Port, Brazil. **International Biodeterioration and Biodegradation**, vol. 116, p. 73–82, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.09.028>.

DEHNERT, G. K.; FREITAS, M. B.; SHARMA, P. P.; BARRY, T. P.; KARASOV, W. H. Impacts of subchronic exposure to a commercial 2,4-D herbicide on developmental stages of multiple freshwater fish species. **Chemosphere**, vol. 263, p.

127638, 1 jan. 2021. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2020.127638>. Acessado on: 20 out. 2022.

DE MEDEIROS, A.O.; DA SILVA, M.G.C.; ALMEIDA, D.G.; MEIRE, H.M.; DA SILVA, M.E.P.; BRASILEIRO, P.P.F.; SARUBBO, L.A. Incorporation of natural surfactants in natural resin-based coatings and analysis of rheological behaviour to obtain natural antifouling agents. **Chemical Engineering Transactions**, vol. 79, no January, p. 193–198, 2020. <https://doi.org/10.3303/CET2079033>.

DIAS, D. Somos 7,5 bilhões de habitantes na Terra. Em 2050, seremos 9 bilhões. Quem vai alimentar o mundo?. **Canal Rural**, 17 jan. 2017. Disponível em: <https://blogs.canalrural.com.br/danieldias/2017/01/17/somos-75-bilhoes-de-habitantes-na-terra-em-2050-seremos-9-bilhoes-quem-vai-alimentar-o-mundo/>. Acessado on: 21 out. 2022.

DOLMAN, B. M., KAISERMANN, C., MARTIN, P. J., WINTERBURN, J. B. Integrated sophorolipid production and gravity separation. **Process Biochemistry**, v. 54, p. 162-171, 2017.

GOMES, A.C.G.S.; DA SILVA, R.R.; MOREIRA, S.I.; VICENTINI, S.N.C.; CERESINI, P.C. Biofungicides: An Eco-Friendly Approach for Plant Disease Management. **Encyclopedia of Mycology**, p. 641–649, 1 jan. 2021. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819990-9.00036-6>. Acessado on: 20 out. 2022.

DRAKONTIS, C.E.; AMIN, S. Biosurfactants: formulations, properties, and applications. **Current Opinion in Colloid and Interface Science**, v. 48, p. 77–90, 2020.

DUSANE, D.; RAHMAN, P.; ZINJARDE, S.; VENUGOPALAN, V.; MCLEAN, R.; WEBER, M. Quorum sensing; implication on rhamnolipid biosurfactant production. **Biotechnology and Genetic Engineering Reviews**, v. 27, p. 159–184, 2010.

EMBRAPA. **Visão 2030 o futuro da agricultura brasileira**. [S. l.: s. n.], 2018.

ERAS-MUÑOZ, E.; FARRÉ, A.; SÁNCHEZ, A.; FONT, X.; GEA, T. Microbial biosurfactants: a review of recent environmental applications. **Bioengineered**, v. 13, p. 12365-12391, 2022.

FAO, Food and Agriculture Organization. Consumo mundial de agrotóxico por ano. **Food and Agriculture Organization (FAO)**, 11 jan. 2023. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/RP/visualize>. Acessado on: 10 jan. 2023.

FAO, Food and Agriculture Organization. Crescimento populacional mundial por ano. **Food and Agriculture Organization (FAO)**, 11 jan. 2023. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/OA/visualize>. Acessado on: 10 jan. 2023.

FARIAS, C.B.B.; ALMEIDA, F.C.G.; SILVA, I.A.; SOUZA, T.C.; MEIRA, H.M.; DA SILVA, R.C.F.S.; LUNA, J.M.; SANTOS, V.A.; CONVERTI, A.; BANAT, I.M.; SARUBBO, L.A. Production of green surfactants: Market prospects. **Electronic**

**Journal of Biotechnology**, vol. 51, p. 28–39, 2021.

<https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2021.02.002>.

FEI, D.; ZHOU, G.W.; YU, Z.Q.; GANG, H.Z.; LIU, J.F.; YANG, S.Z.; YE, R.Q.; MU, B.Z. Low-toxic and nonirritant biosurfactant surfactin and its performances in detergent formulations. **Journal of Surfactants and Detergents**, v.23, 109–115, 2020.

FENG, J.; WANG, R.; CHEN, Z.; ZHANG, S.; YUAN, S.; CAO, H.; JAFARI, S. M.; YANG, W. Formulation optimization of D-limonene-loaded nanoemulsions as a natural and efficient biopesticide. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, vol. 596, p. 124746, 5 jul. 2020.

<https://doi.org/10.1016/J.COLSURFA.2020.124746>. Acessado on: 28 jun. 2022.

FENIBO, E.O.; IJOMA, G.N.; SELVARAJAN, R.; CHIKERE, C.B. Microbial surfactants: The next generation multifunctional biomolecules for applications in the petroleum industry and its associated environmental remediation. **Microorganisms**, v. 7, 581, 2019.

GAO, S.; LIU, G.; LI, J.; CHEN, J.; LI, L.; LI, Z.; ZHANG, X.; ZHANG, S.; THORNE, R.F.; ZHANG, S. Antimicrobial Activity of Lemongrass Essential Oil (*Cymbopogon flexuosus*) and Its Active Component Citral Against Dual-Species Biofilms of *Staphylococcus aureus* and *Candida* Species. **Front. Cell. Infect. Microbiol.**, 2020. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.603858>.

GASKIN, R E.; MURRAY, R.J.; KRISHNA, H.; CARPENTER, A. Effect of adjuvants on the retention of insecticide spray on cucumber and pea foliage. **New Zealand Plant Protection**, v. 53, p. 355-359, 2000.

GOULI, V.V.; MARCELINO, J.A.P.; GOULI, S.Y. Microbial formulations for control of noxious organisms. **Microbial Pesticides**, p. 193–247, 1 jan. 2021.

<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-824451-7.00003-6>. Acessado on: 28 jun. 2022.

HADDAD, N.I. Isolation and characterization of a biosurfactant producing strain, *Brevibacillus brevis* HOB1. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 35, p. 1597–1604, 2008.

HAYES, D.G.; SMITH, G.A. Biobased Surfactants: Overview and Industrial State of the Art. Second Edi. [S. I.]: **Elsevier Inc.**, 2019. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812705-6.00001-0>.

HAZEN, J.L. Adjuvants: Terminology, classification, and chemistry. **Weed Technology**, v. 14, n. 4, p. 773-784, 2000.

HIPÓLITO, A.; DA SILVA, R.A.A.; CARETTA, T.O.; SILVEIRA, V.A.I.; AMADOR, I.R.; PANÁGIO, L.A.; BORSATO, D.; CELLIGOI, M.A.P.C. Evaluation of the antifungal activity of sophorolipids from *Starmerella bombicola* against food spoilage fungi. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 29, p. 101797, 1 out. 2020.

<https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101797>.



JHANSI RANI, S.; USHA, R. Transgenic plants: Types, benefits, public concerns and future. **Journal of Pharmacy Research**, vol. 6, no 8, p. 879–883, 1 ago. 2013. <https://doi.org/10.1016/J.JOPR.2013.08.008>. Acessado on: 21 out. 2022.

JIMOH, A.A.; LIN, J. Biosurfactant: a new frontier for greener technology and environmental sustainability. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 184, 109607, 2019.

KIM, P.I.; BAI, H.; BAI, D.; CHAE, H.; CHUNG, S.; KIM, Y.; PARK, R.; CHI, Y.T. Purification and characterization of a lipopeptide produced by *Bacillus thuringiensis* CMB26. **Journal of Applied Microbiology**, v. 97, p. 942–949, 2004.

KIM, P.I.; RYU, J.; KIM, Y.H.; CHI, Y.T. Production of biosurfactant lipopeptides Iturin A, fengycin and surfactin A from *Bacillus subtilis* CMB32 for control of *Colletotrichum gloeosporioides*. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 20, p. 138–145, 2010.

KIM, S.K.; KIM, Y.C.; LEE, S.; KIM, J.C.; YUN, M.Y.; KIM, I.S. Insecticidal activity of rhamnolipid isolated from *Pseudomonas* sp. EP-3 against green peach aphid (*Myzus persicae*). **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 59, p. 934–938, 2011.

KISSMANN, K.G.; GUEDES, J.V.C.; DORNELLES, S.B. Tecnologia e segurança na aplicação de agrotóxicos: Novas tecnologias. **Santa Maria: Departamento de Defesa Fitossanitária; Sociedade de Agronomia de Santa Maria**, p. 39-51, 1998.

KONISHI, M.; MORITA, T.; FUKUOKA, T.; IMURA, T.; UEMURA, S.; IWABUCHI, H.; KITAMOTO, D. Efficient production of acid-form sophorolipids from waste glycerol and fatty acid methyl esters by *Candida floricola*. **Journal Oleo Sciences**, n. 67, v. 4, p. 489-496, 2018.

KRUIJT, M.; TRAN, H.; RAAIJMAKERS, J.M. Functional, genetic and chemical characterization of biosurfactants produced by plant growth-promoting *Pseudomonas putida* 267. **Journal of Applied Microbiology**, v.107, p. 546–556, 2009.

KRZYZANOWSKA, D.M.; POTRYKUS, M.; GOLANOWSKA, M.; POLONIS, K.; GWIZDEK-WISNIEWSKA, A.; LOJKOWSKA, E.; JAFRA, S. Rhizosphere bacteria as potential biocontrol agents against soft rot caused by various *Pectobacterium* and *Dickeya* spp. strains. **Journal of Plant Pathology**, v. 94, 2012.

KUDSK, P.; MATHIASSEN, S.K. Analysis of adjuvant effects and their interactions with variable application parameters. **Crop Protection**, v. 26, n. 3, p. 328-334, 2007.

KUMAR, K.K.; SRIDHAR, J.; MURALI-BASKARAN, R.K.; SENTHIL-NATHAN, S.; KAUSHAL, P.; DARA, S.K.; ARTHURS, S. Microbial biopesticides for insect pest management in India: Current status and future prospects. **Journal of Invertebrate Pathology**, vol. 165, p. 74–81, 1 jul. 2019. <https://doi.org/10.1016/J.JIP.2018.10.008>. Acessado on: 28 jun. 2022.

LIN, H.; ZHOU, H.; XU, L.; ZHU, H.; HUANG, H. Effect of surfactant concentration on the spreading properties of pesticide droplets on Eucalyptus leaves. **Biosystems Engineering**, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2016.01.003>.

MALDANER, J.; OLIVEIRA, M.N.; SANTOS, D.A.; SILVA, S.Y.S.; SILVA, S.C.; LIMA, T.C.; DA SILVA, M.L.; SILVA, H.T.L.; SIQUEIRA-SILVA, D. H.; STEFFEN, G.P.K.; STEFFEN, R.B. Bioherbicide and anesthetic potential of Aniba canelilla essential oil, a contribution to the demands of the agricultural sector. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, vol. 42, p. 102353, 1 jul. 2022. <https://doi.org/10.1016/J.BCAB.2022.102353>. Acessado on: 20 out. 2022.

MANGALAGIRI, N.P.; PANDITI, S.K.; JEEVIGUNTA, N.L.L. Antimicrobial activity of essential plant oils and their major componentes. **Heliyon**, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06835>.

MANN, R. M.; BIDWELL, J. R. The acute toxicity of agricultural surfactants to the tadpoles of four Australian and two exotic frogs. **Environmental Pollution**, vol. 114, no 2, p. 195–205, 1 set. 2001. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(00\)00216-5](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(00)00216-5). Acessado on: 21 out. 2022.

MAO, X.; JIANG, R.; XIAO, W.; YU, J. Use of surfactants for the remediation of contaminated soils: A review. **Journal of Hazardous Materials**, vol. 285, p. 419–435, 1 mar. 2015. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.12.009>.

MARKETSANDMARKETS. Agricultural surfactants market worth \$1.88 bn by 2022. **Focus on Surfactants**, vol. 2018, no 5, p. 2–3, 1 maio 2018. <https://doi.org/10.1016/J.FOS.2018.05.009>. Acessado on: 21 out. 2022.

MARTINEZ-BURGOS, W.J.; SYDNEY, E.B.; MEDEIROS, A.B.P.; MAGALHAES, A.I.; DE CARVALHO, J.C.; KARP, S.G.; VANDENBERGHE, L.P.S.; JUNIOR LETTI, L.A.; SOCCOL, V.T; DE PEREIRA, G.V.P; RODRIGUES, C.; WOICIECHOWSKI, A.L; SOCCOL, C.R. Agro-industrial wastewater in a circular economy: characteristics, impacts and applications for bioenergy and biochemicals. **Bioresource Technology**, v. 341, 125795, 2021.

MATA-SANDOVAL, J. C.; KARNS, J.; TORRENTS, A. Influence of Rhamnolipids and Triton X-100 on the Biodegradation of Three Pesticides in Aqueous Phase and Soil Slurries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 7, p. 3296–3303, 1 jul. 2001.

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. 1, p. 1-13, 2021.

MULLIGAN, C. N.; WANG, S. Remediation of a heavy metal-contaminated soil by a rhamnolipid foam. **Engineering Geology**, v. 85, n. 1–2, p. 75–81, maio 2006.

NASCIMENTO, J.; GONCALVES, K.C.; DIAS, N.P.; DE OLIVEIRA, J.L.; BRAVO, A.; POLANCZYK, R.A. Adoption of *Bacillus thuringiensis*-based biopesticides in



agricultural systems and new approaches to improve their use in Brazil. **Biological Control**, vol. 165, p. 104792, 1 fev. 2022.

<https://doi.org/10.1016/J.BIOCONTROL.2021.104792>. Acessado on: 28 jun. 2022.

NIELSEN, T.H.; SØRENSEN, J. Production of cyclic lipopeptides by *Pseudomonas fluorescens* strains in bulk soil and in the sugar beet rhizosphere. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, p. 861–868, 2003.

NISHIO, E.; ICHIKI, Y.; TAMURA, H.; MORITA, S.; WATANABE, K.; YOSHIKAWA, H. Isolation of bacterial strains that produce the endocrine disruptor, octylphenol diethoxylates, in paddy fields. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v. 66, p. 1792–1798, 2002.

NUNES, F.M. Manejo biológico de lagartas na cultura do tomate. **PROMIP Manejo integrado de Pragas**, 19 jul. 2019. Disponível em: <https://promip.agr.br/manejo-biologico-de-lagartas-na-cultura-do-tomate/>. Acessado on: 20 out. 2022.

PACWA-PŁOCINICZAK, M.; PŁAZA, G.A.; PIOTROWSKA-SEGET, Z.; CAMEOTRA, S.S. Environmental applications of biosurfactants: Recent advances. **International Journal of Molecular Sciences**, vol. 12, no 1, p. 633–654, jan. 2011. <https://doi.org/10.3390/ijms12010633>.

PAULINO, B.N.; PESSÔA, M.G.; MANO, M.C.R.; MOLINA, G.; NERI-NUMA, I.A.; PASTORE, G.M. Current status in biotechnological production and applications of glycolipid biosurfactants. **Applied Microbiology and Biotechnology**, vol. 100, no 24, p. 10265–10293, 2016. <http://dx.doi.org/10.1007/s00253-016-7980-z>.

PETROVIC, M.; BARCELO, D. Analysis and fate of surfactants in sludge and sludge-amended soil. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 23, p. 10–11, 2004.

RAMÍREZ-CAMEJO, L. A.; BAYMAN, P.; MEJÍA, L. C. *Drosophila melanogaster* as an emerging model host for entomopathogenic fungi. **Fungal Biology Reviews**, 17 set. 2022. <https://doi.org/10.1016/J.FBR.2022.09.001>. Acessado on: 20 out. 2022.

RAMSEY, R.J.L.; STEPHENSON, G.R.; HALL, J.C. A review of the effects of humidity, humectants, and surfactant composition on the absorption and efficacy of highly water- soluble herbicides. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 82, n. 2, p. 162-175, 2005.

RAWAT, G.; DHASMANA, A.; KUMAR, V. Biosurfactants: The next generation biomolecules for diverse applications. **Environmental Sustainability**, v. 3, p. 353–369, 2020.

RIBEIRO, B.G.; DOS SANTOS, M.M.; DA SILVA, I.A.; MEIRA, H.M.; DE MEDEIROS, A.O.; GUERRA, J.M.C.; SARUBBO, L.A. Study of the biosurfactant production by *saccharomyces cerevisiae* URM 6670 using agroindustrial waste. **Chemical Engineering Transactions**, vol. 79, no March, p. 61–66, 2020. <https://doi.org/10.3303/CET2079011>.

RIBEIRO, B.G.; GUERRA, J.M.C.; SARUBBO, L.A. Biosurfactants: Production and Application Prospects in the Food Industry. **Biotechnology Progress**, v. 35, e3030, 2020.

RIGOTTO, R.M.; VASCONCELOS, D.P.E.; ROCHA, M.M. Pesticide use in Brazil and problems for public health. **Cadernos de Saude Publica**, vol. 30, no 7, p. 1360–1362, 1 jul. 2014. <https://doi.org/10.1590/0102-311XPE020714>.

RIYANTO; MULWANDARI, M.; ASYSYAFIYAH, L.; SIRAJUDDIN, M.I.; CAHYANDARU, N. Direct synthesis of lemongrass (*Cymbopogon citratus* L.) essential oil-silver nanoparticles (EO-AgNPs) as biopesticides and application for lichen inhibition on stones. **Heliyon**, vol. 8, no 6, p. e09701, 1 jun. 2022. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2405844022009896>. Acessado on: 28 jun. 2022.

RIZZATTO, D.A. Adjuvantes agrícolas: classificação, benefícios e sua importância nas pulverizações. **Mais Soja**, abr 2019. <https://maissoja.com.br/adjuvantes-agricolas-classificacao-beneficios-e-sua-importancia-nas-pulverizacoes> Acesso em: 30 out. 2022.

ROELANTS, S. L.; CIESIELSKA, K.; DE MAESENEIRE, S.L.; MOENS, H.; EVERAERT, B.; VERWEIRE, S.; DENON, Q.; VANLERBERGHE, B.; VAN BOGAERT, I.N.; VAN DER MEEREN, P.; DEVREESE, B.; SOETAERT, W. Towards the industrialization of new biosurfactants: Biotechnological opportunities for the lactone esterase gene from *Starmarella bombicola*. **Biotechnology and Engineering**, v. 113 (3), p. 550-559, 2016.

RODRIGUEZ S.B.; MAHONEY, N.E. Inhibition of aflatoxin production by surfactants. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 60, p. 106–110, 1994.

RODRÍGUEZ-LOPEZ, L.; RINCON-FONTAN, M.; VECINO, X.; MOLDES, A.B.; CRUZ, J.M. Biodegradability study of the biosurfactant contained in a crude extract from corn steep water. **Journal of Surfactants and Detergents**, v. 23, p. 79–90, 2020.

ROLTSCH, W. J.; BÜRGI, L. P.; TOMIC-CARRUTHERS, N.; RUGMAN-JONES, P. F.; STOUTHAMER, R.; MILLS, N. J. Mortality of light brown apple moth egg masses in coastal California: Impact of resident *Trichogramma* parasitism and predation. **Biological Control**, vol. 152, p. 104465, 1 jan. 2021. <https://doi.org/10.1016/J.BIOCONTROL.2020.104465>. Acessado on: 20 out. 2022.

RON, E.Z.; ROSENBERG, E. Natural roles in biosurfactants. **Environmental Microbiology**, v. 3, p. 229–236, 2011.

RONDEAU, S.; RAINE, N. E. Fungicides and bees: a review of exposure and risk. **Environment International**, vol. 165, p. 107311, 1 jul. 2022. <https://doi.org/10.1016/J.ENVINT.2022.107311>. Acessado on: 20 out. 2022.

ROSTAS, M.; BLASSMANN, K. Insects had it first: surfactants as a defense against predators. **Proceedings of the Royal Society B**, v. 276, p. 633–638, 2009.

RUUSKANEN, S.; FUCHS, B.; NISSINEN, R.; PUIGBÒ, P.; RAINIO, M.; SAIKKONEN, K.; HELANDER, M. Ecosystem consequences of herbicides: the role of microbiome. **Trends in Ecology & Evolution**, 13 out. 2022. DOI 10.1016/J.TREE.2022.09.009. Disponível em:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/36243622>. Acessado on: 20 out. 2022.

SACHDEV, D.P.; CAMEOTRA, S.S. Biosurfactants in agriculture. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 97, p. 1005–1016, 2013.

SAŁEK, K.; EUSTON, S.R. Sustainable microbial biosurfactants and bioemulsifiers for commercial exploitation. **Process Biochemistry**, v. 85, p. 143–155, 2019.

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**, vol. 17, no 3, p. 1–31, 2016a. <https://doi.org/10.3390/ijms17030401>.

SARUBBO, L.A.; ROCHA, R.B.; LUNA, J.M.; RUFINO, R.D.; SANTOS, V.A.; BANAT, I.M. Some aspects of heavy metals contamination remediation and role of biosurfactants. **Chemistry and Ecology**, vol. 31, no 8, p. 707–723, 17 nov. 2015. <https://doi.org/10.1080/02757540.2015.1095293>.

SARUBBO, L.A.; DA SILVA, M.G.C.; DURVAL, I.J.B.; BEZERRA, K.G.O.; RIBEIRO, B.G.; SILVA, I.A.; TWIGG, M.S.; BANAT, I.M. Biosurfactants: Production, properties, applications, trends, and general perspectives. **Biochemical Engineering Journal**, vol. 181, 1 abr. 2022. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2022.108377>.

SCHÖNHERR, J.; BAUR, P.; UHLIG, B. A. Rates of cuticular penetration of 1-naphthylacetic acid (NAA) as affected by adjuvants, temperature, humidity and water quality. **Plant Growth Regulation**, v. 31, n. 1/2, p. 61–74, 2000.

SERRANO-CARREÓN, L.; ARANDA-OCAMPO, S.; BALDERAS-RUIZ, K.A.; JUÁREZ, A.M.; LEYVA, E.; TRUJILLO-ROLDÁN, M.A.; NORMA, A.; GALINDO, E. A case study of a profitable mid-tech greenhouse for the sustainable production of tomato, using a biofertilizer and a biofungicide. **Electronic Journal of Biotechnology**, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2022.06.003>.

SHOKOUHI, D.; SEIFI, A. Organic extracts of seeds of Iranian Moringa peregrina as promising selective biofungicide to control Mycogone perniciosa. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, vol. 30, p. 101848, 1 nov. 2020. <https://doi.org/10.1016/J.BCAB.2020.101848>. Acessado on: 20 out. 2022.

SILVA, E.J.; CORREA, P.F.; ALMEIDA, D.G.; LUNA, J.M.; RUFINO, R.D.; SARUBBO, L.A. Recovery of contaminated marine environments by biosurfactant-enhanced bioremediation. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 172, p. 127–135, 2018.

SILVA, F.C.P.R.; SILVA, N. M.P.R.; LUNA, J.M.; RUFINO, R.D.; SANTOS, V.A.; SARUBBO, L.A. Dissolved air flotation combined to biosurfactants: a clean and

efficient alternative to treat industrial oily water. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, vol. 17, no 4, p. 591–602, 2018. <https://doi.org/10.1007/s11157-018-9477-y>.

SILVA, G.; RAMOS, T. INTERVENÇÃO PEDAGÓGICA. **Vivências**, vol. 18, no 36, p. 215–226, 21 abr. 2022. <https://doi.org/10.31512/vivencias.v18i36.655>.

SILVA, I.A.; ALMEIDA, F.C.G.; SOUZA, T.C.; BEZERRA, K.G.O.; DURVAL, I.J.B.; CONVERTI, A.; SARUBBO, L.A. Oil Spills: Impacts and perspectives of treatment technologies with focus on the use of green surfactants. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 194, 143, 2022.

SILVA, N.M.P.R.; MEIRA, H.M.; ALMEIDA, F.C.G.; SILVA, R.C.F.S.; ALMEIDA, D.G.; LUNA, J.M.; RUFINO, R.D.; SANTOS, V.A.; SARUBBO, L.A. Natural surfactants and their applications for heavy oil removal in industry. **Separation & Purification Reviews**, v. 48, p. 267–281, 2019.

SIVAPATHASEKARAN, C.; SEN, R. Origin, properties, production and purification of microbial surfactants as molecules with immense commercial potential. **Tenside, Surfactants, Detergents**, vol. 54, no 2, p. 92–104, 2017. <https://doi.org/10.3139/113.110482>.

STOCK, D.; BRIGGS, G. Physiochemical properties of adjuvants: values and applications. **Weed Technology**. Champaign, v.14, p. 798-806, 2000.

TAOWKRUE, E.; SONGDECH, P.; MANEERAT, S.; SOONTORNGUN, N. Enhanced production of yeast biosurfactant sophorolipids using yeast extract or the alternative nitrogen source soybean meal. **Industrial Crops & Products**, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2024.118089>.

TREVIÑO, M. J. S.; PEREIRA-COELHO, M.; LÓPEZ, A. G. R.; ZARAZÚA, S.; DOS SANTOS MADUREIRA, L. A.; MAJCHRZAK, T.; PŁOTKA-WASYLKA, J. How pesticides affect neonates? - Exposure, health implications and determination of metabolites. **Science of The Total Environment**, vol. 856, p. 158859, 15 jan. 2023. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2022.158859>. Acessado on: 20 out. 2023.

TWIGG, M.S.; BACCILE, N.; BANAT, I.M.; D'ÉZIEL, E.; MARCHANT, R.; ROELANTS, S.; VAN BOGAERT, I.N.A. Microbial biosurfactant research: time to improve the rigour in the reporting of synthesis, functional characterization and process development. **Microbiology and Biotechnology**, v. 14, p. 147–170, 2021.

TWIGG, M.S.; TRIPATHI, L.; ZOMPRA A.; SALEK K.; IRORERE, V.U.; GUTIERREZ, T.; SPYROULIAS, G.A.; MARCHANT, R.; BANAT, I.M. Identification and characterisation of short chain rhamnolipid production in a previously uninvestigated, non-pathogenic marine pseudomonad. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 102, p. 8537–8549, 2018.

ULRICH, A.; LERIN, L. A.; CAMARGO, A. F.; SCAPINI, T.; DIERING, N. L.; BONAFIN, F.; GASPARETTO, I. G.; CONFORTIN, T. C.; SANSONOVICZ, P. F.; FABIAN, R. L.; REICHERT JÚNIOR, F. W.; TREICHEL, H.; MÜLLER, C.; MOSSI, A.

J. Alternative bioherbicide based on *Trichoderma koningiopsis*: Enzymatic characterization and its effect on cucumber plants and soil organism. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, vol. 36, p. 102127, 1 set. 2021.  
<https://doi.org/10.1016/J.BCAB.2021.102127>. Acessado on: 20 out. 2022.

VAN BOGAERT, I.N.A.; SOETAERT, W.; LIN, C.S.K. *Starmerella bombicola*: recent advances on sophorolipid production and prospects of waste stream utilization. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, n. 94, v. 4, p.999-1007, 2019.

VATSA, P.; SANCHEZ, L.; CLEMENT, C.; BAILLIEUL, F.; DOREY, S. Rhamnolipid biosurfactants as new players in animal and plant defense against microbes. **International Journal of Molecular Science**, v. 11, p. 5095–5108, 2010.

VELHO, R.V.; MEDINA, L.F.; SEGALIN, J.; BRANDELLI, A. Production of lipopeptides among *Bacillus* strains showing growth inhibition of phytopathogenic fungi. **Folia Microbiology**, v. 56, p. 297–303, 2011.

VIEIRA, I.M.M.; SANTOS, B.L.P.; RUZENE, D.S.; SILVA, D.P. An overview of current research and developments in biosurfactants. **Journal of Industrial Engineering Chemistry**, v. 100, p. 1–18, 2021.

WADEKAR, S.D.; KALE S.B.; LALI A.M.; BHOWMICK D.N.; PRATAP A.P. Utilization of sweetwater as a cost-effective carbon source for sophorolipids production by *Starmerella bombicola* (ATCC 22214). **Prep Biochem Biotechnol.** 2012;42(2):125-42. <https://doi.org/10.1080/10826068.2011.577883>. PMID: 22394062.

WANG, C.J.; LIU, Z.Q. Foliar uptake of pesticides: Present status and future challenge. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 87, n. 1, p. 1-8, 2007.

WANG, H.; ROELANTS, S.L.; TO, M.H.; PATRIA, R.D.; KAUR, G.; LAU, N.S.; LAU, C.Y.; VAN BOGAERT, I.N.; SOETAERT, W.; LIN, C.S. *Starmerella bombicola*: recent advances on sophorolipid production and prospects of waste stream utilization. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 94, p. 999–1007, 2019.

WANG, H.; KAUR, G.; HO TO, M.; SOPHIE L. K. W. R.; PATRIA, R. D.; SOETAERT, W.; LIN, C. S. K. Efficient in-situ separation design for long-term sophorolipids fermentation with high productivity. **Journal of Cleaner Production**, 2019.  
 DOI:10.1016/j.jclepro.2019.118995

WARD, L. T.; HLADIK, M. L.; GUZMAN, A.; WINSEMIUS, S.; BAUTISTA, A.; KREMEN, C.; MILLS, N. J. Pesticide exposure of wild bees and honey bees foraging from field border flowers in intensively managed agriculture areas. **Science of The Total Environment**, vol. 831, p. 154697, 20 jul. 2022.  
<https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2022.154697>. Acessado on: 20 out. 2022.

WATTANAPHON, H.T.; KERDSIN, A.; THAMMACHAROEN, C.; SANGVANICH, P.; VANGNA, I A.S. A biosurfactant from *Burkholderia cenocepacia* BSP3 and its enhancement of pesticide solubilization. **J Appl Microbiol.** 105(2):416-23, 2008.  
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2008.03755.x>. PMID: 18298537.

WERNER, S.J.; DELIBERTO, S.T.; MANGAN, A.M.; PETTIT, S.E.; ELLIS, J.W.; CARLSON, J.C. Anthraquinone-based repellent for horned larks, great-tailed grackles, American crows and the protection of California's specialty crops. **Crop Protection**, vol. 72, p. 158–162, 1 jun. 2015.

<https://doi.org/10.1016/J.CROPRO.2015.03.020>. Acessado on: 28 jun. 2022.

WU, H.Q.; SUN, L.L.; LIU, F.; WANG, Z. Y.; CAO, C. W. Preparation of dry flowable formulations of *Clonostachys rosea* by spray drying and application for *Sclerotinia sclerotiorum* control. **Journal of Integrative Agriculture**, vol. 17, no 3, p. 613–620, 1 mar. 2018. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(17\)61811-2](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(17)61811-2). Acessado on: 28 jun. 2022.

XU, L.; ZHU, H.; OZKAN, H. E.; BAGLEY, W. E.; DERKSEN, R. C.; KRAUSE, C. R. Adjuvant effects on evaporation time and wetted area of droplets on waxy leaves. **Transactions of the ASABE**, vol. 53, no 1, p. 13–20, 2010.

YU, Y.; ZHU H.; OZKAN H.E.; DERKSEN R.C.; KRAUSE C.R. Evaporation and deposition coverage area of droplets containing insecticides and spray additives on hydrophilic, hydrophobic, and crabapple leaf surfaces. **Transactions of the ASABE**, vol. 52, no 1, p. 39–49, 2009.

YU, X.; LI, X.; JIN, T.; SU, Y.; LI, J.; GAO, M.; ZHENG, L.; TAN, S.; CHEN, G. Integrated biorefinery process for production of sophorolipids from corn straw. **Biochemical Engineering Journal**, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2020.107908>.

YUAN, C.L.; XU, Z.Z.; FAN, M.X.; LIU, H.Y.; XIE, Y.H.; ZHU, T. Estudio sobre las características y el dano de los tensioactivos. **Journal of Chemical and Pharmacological Research**, v. 6, p. 2233–2237, 2014.

YERUSHALMI, L. ROCHELEAU, S. CIMPOIA, R. SARRAZIN, M. SUNAHARA, G. PEISAJOVICH, A. LECLAIR, G. GUIOT, S.R. Enhanced biodegradation of petroleum hydrocarbons in contaminated soil. **Bioremediation Journal**, vol. 7, pp. 37-51, 2003.

ZAHED, M.A.; ·MATINVAFA, M.A.; ·AZARI, A.; ·MOHAJERI, L. Biosurfactant, a green and effective solution for bioremediation of petroleum hydrocarbons in the aquatic environment. **Discover Water**, v. 2, 5, 2022.

ZHANG, C.; ZHOU, T.; XU, Y.; DU, Z.; LI, B.; WANG, J.; WANG, J.; ZHU, L. Ecotoxicology of strobilurin fungicides. **Science of The Total Environment**, vol. 742, p. 140611, 10 nov. 2020. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2020.140611>. Acessado on: 20 out. 2022.



## ANEXO A – Biosurfactant: A Biodegradable Antimicrobial Substance ( <https://doi.org/10.1002/9781119905301.ch17> )

14/02/2024, 11:46

Biosurfactant: A Biodegradable Antimicrobial Substance - Biodegradable Materials and Their Applications - Wiley Online Libr...

[< Back](#)

Chapter 17

### Biosurfactant: A Biodegradable Antimicrobial Substance

Maria da Gloria C. Silva  Anderson O. de Medeiros, Leonie A. Sarubbo

Book Editor(s): Inamuddin, Tariq Altalhi

First published: 20 September 2022

<https://doi.org/10.1002/9781119905301.ch17>

### Summary

The coronavirus pandemic in 2020 increased the use of cleaning agents by residential individuals and businesses that maintained their operation even remotely. In formulating these products, one of the key ingredients is the surfactant molecule. Surfactants, in general, due to their characteristics, can act as antimicrobial agents. The presence of this active in cleaning products facilitates the process of removing dirt and reduces the occurrence of infections and health risks. However, most surfactants present in the consumer market, when used, require high consumption of water for removal and are also discharged into domestic sewage, without treatment, causing toxicity in different organisms due to their recalcitrance in the environment. Thus, the knowledge and use of biosurfactants, amphipathic molecules that can be obtained by plants and microbes, is important. Since, in addition to the same properties found in common surfactants, biosurfactants are highly biodegradable. This chapter discusses biosurfactants with a focus on their biodegradability, the different types of tests applied to assess this parameter and recent studies with importance in the applications of biosurfactants as antimicrobial agents.

### References

Ra, M., Kowsari, E., Teymourian, T., Ramakrishna, S., Environmental impact of increased soap consumption during COVID-19 pandemic: Biodegradable soap production and sustainable packaging. *Sci. Total Environ.*, 796, 149013, 2021.

[Google Scholar](#)

Kogawa, A.C., Cernic, B.G., do Couto, L.G.D., Salgado, H.R.N., Synthetic detergents: 100 years of history. *Saudi Pharm. J.*, 25, 934, 2017.

 View

[PubMed](#)

[Web of Science®](#)

[Google Scholar](#)

**ANEXO B – Biosurfactants for Formulation of Sustainable Agrochemicals**  
 ( [https://doi.org/10.1007/978-3-031-31230-4\\_9](https://doi.org/10.1007/978-3-031-31230-4_9) )

## **Biosurfactants for Formulation of Sustainable Agrochemicals**



Maria da Gloria C. Silva, Fabiola Carolina G. de Almeida,  
Anderson O. de Medeiros, and Leonie A. Sarubbo

### **1 Introduction**

Agriculture is one of the oldest human activities, and today, developing it in a sustainable way with the goal of maintaining agricultural over production is a great challenge. Pests and plant diseases have long threatened the productivity causing huge losses in the production of economically important crops, such as soybeans, coffee, cotton, tomatoes, and corn. Diseases that affect plant species occur in almost all stages of crop production, and the control of these injuries by toxic chemicals affects sustainable development. With this, the maintenance of productivity results in economic costs in the order of billions of dollars per year and causing the loss of basic foods to the final consumer such as rice, wheat, corn, and potato (Oerke 2006; Jumina et al. 2019). The elimination of pest and disease populations without the use of pesticides or with reduced use of agrochemicals is the main objective of biological control, which emerges as one of the most sustainable strategies today. Pests are defined as any insects, plants (weeds), or undesirable microorganisms like molds, yeast, virus, and bacteria that originate disease (pathogens) or physiological damage to different types of plants. To eliminate these pests,

---

M. d. G. C. Silva (✉) · F. C. G. de Almeida  
Instituto avançado de tecnologia e inovação (IATI), Recife, Pernambuco, Brazil

A. O. de Medeiros  
Departamento de Engenharia Química (DEQ), Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil

L. A. Sarubbo  
Instituto avançado de tecnologia e inovação (IATI), Recife, Pernambuco, Brazil

Departamento de Engenharia Química (DEQ), Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil

Icam-Tech School, Universidade Católica de Pernambuco (UNICAP), Recife, Pernambuco, Brazil



# ANEXO C – Surface Properties and Biological Activities on Bacteria Cells by Biobased Surfactants for Antifouling Applications ( <https://doi.org/10.3390/surfaces5030028> )



surfaces



Article

## Surface Properties and Biological Activities on Bacteria Cells by Biobased Surfactants for Antifouling Applications

Maria da Gloria C. da Silva<sup>1,2</sup>, Maria Eduarda P. da Silva<sup>3</sup>, Anderson O. de Medeiros<sup>3</sup>, Hugo M. Meira<sup>2,3</sup> and Leonie A. Sarubbo<sup>1,2,3,\*</sup>

<sup>1</sup> Northeast Biotechnology Network (RENORBIO), Federal Rural University of Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, Recife 52171-900, Brazil

<sup>2</sup> Instituto Avançado de Tecnologia e Inovação (IATI), Rua Potyra, 31—Prado, Recife 50751-310, Brazil

<sup>3</sup> Escola Icam Tech, Universidade Católica de Pernambuco (UNICAP), Rua do Príncipe, n. 526, Boa Vista, Recife 50050-900, Brazil

\* Correspondence: leonie.sarubbo@unicap.br; Tel.: +55-81-21194084



**Citation:** da Silva, M.d.G.C.; da Silva, M.E.P.; de Medeiros, A.O.; Meira, H.M.; Sarubbo, L.A. Surface Properties and Biological Activities on Bacteria Cells by Biobased Surfactants for Antifouling Applications. *Surfaces* **2022**, *5*, 383–394. <https://doi.org/10.3390/surfaces5030028>

Academic Editor: Gaetano Granozzi

Received: 10 June 2022

Accepted: 25 August 2022

Published: 28 August 2022

**Publisher's Note:** MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



**Copyright:** © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

**Abstract:** Microfouling is the deposition of inorganic and organic material on surfaces and can cause economic losses. This deposition affects the performance of vessels, causes corrosion, clogging of equipment and contaminates the surfaces of medical items and the surface of machinery that handles food; it is controlled by cleaning products that contain synthetic surfactants in their formulations. Biobased products provide a promising basis to produce sustainable chemicals such as surfactants. In the present study, the biobased surfactants glyceryl laurate and hydroxystearic acid were synthesized and evaluated for stability at different pH values, salinity and temperatures. In addition, bioactivity tests against *Pseudomonas aeruginosa* (UCP 0992) and *Bacillus cereus* (UCP 1516) were also performed. Biobased surfactants glyceryl laurate and hydroxystearic acid showed excellent stability against temperature, pH, salinity and emulsifying activities for different kinds of oils; prevented bacterial adhesion by almost 100%; and affected the production of EPS by both bacteria and their consortium when compared to a synthetic surfactant SDS. The results showed the potential of these substances for application as an alternative antifouling non-biocide.

**Keywords:** natural surfactant; biosurfactant; antimicrobial; antiadhesive; *Pseudomonas aeruginosa*; biofilm; coconut oil

### 1. Introduction

The future shortage of fossil fuels is a major challenge for the maintenance of current technological development, and recent research is adding value to biomass from different sources to produce new types of products in search of sustainability [1,2]. Biobased products, i.e., biomass, are made from renewable materials and provide a promising basis to produce more complex objects, materials and sustainable chemicals such as biodegradable plastics, lubricants, solvents, surfactants, etc. Within this scenario, the production of surfactants of natural origin has shown high potential for application due to the strong demand for biodegradable products [1].

A surfactant is any molecule that attracts polar and nonpolar substances, reduces the surface tension between them and makes them mix. Because they have two parts of opposite affinity (a hydrophobic tail and a hydrophilic head) they can reduce the interfacial tension between two immiscible liquids or between a liquid and a solid. According to the nature of the hydrophilic molecular polarity, surfactants can be classified as anionic (negatively charged), cationic (positively charged), nonionic (uncharged) and zwitterionic surfactants (cationic and anionic centers attached to the same molecule). These properties allow surfactants to have moisturizing, emulsifying, foaming, floating, suspending, antibacterial, antiadhesive and protective actions. They also aid drug absorption and act as detergents [3–7].

## ANEXO D – Biosurfactants: Promising Biomolecules for Agricultural Applications

(<https://doi.org/10.3390/su16010449>)



Review

### Biosurfactants: Promising Biomolecules for Agricultural Applications

Maria da Glória C. Silva<sup>1</sup>, Anderson O. Medeiros<sup>1,2</sup>, Attilio Converti<sup>1,3</sup> , Fabiola Carolina G. Almeida<sup>1</sup> and Leonie A. Sarubbo<sup>1,2,4\*</sup>

<sup>1</sup> Advanced Institute of Technology and Innovation (IATI), Rua Potyra, n. 31, Prado, Recife 50751-310, Pernambuco, Brazil; gloria.silva@iati.org.br (M.d.G.C.S.); anderson.medeiros@ufpe.br (A.O.M.); converti@unige.it (A.C.); fabiola.almeida@iati.org.br (F.C.G.A.)

<sup>2</sup> Department of Chemical Engineering, Federal University of Pernambuco (UFPE), Av. Prof. Moraes Rego, n. 1225, Cidade Universitária, Recife 50670-901, Pernambuco, Brazil

<sup>3</sup> Department of Civil, Chemical and Environmental Engineering, University of Genoa (UNIGE), Via Opera Pia, n. 15, I-16145 Genoa, Italy

<sup>4</sup> UNICAP Icam Tech School, Catholic University of Pernambuco (UNICAP), Rua do Príncipe, n. 526, Boa Vista, Recife 50050-900, Pernambuco, Brazil

\* Correspondence: leonie.sarubbo@unicap.br; Tel: +55-81-21194000

**Abstract:** Population growth and the need for increased agricultural productivity pose a global problem. Therefore, the development of green compounds to ensure agricultural sustainability is an urgent necessity. Surfactant compounds hold significant commercial importance due to their diverse industrial uses. However, the synthetic origin of these agents limits their commercial application due to their toxicity. As a result, extensive research has focused on the production of microbial-originated green surfactants, known as biosurfactants, over the past fifteen years. These biomolecules not only offer a green alternative for agriculture but also exhibit reduced toxicity and excellent stability under specific environmental conditions. Biosurfactants can lower surface tension more effectively than synthetic surfactants. With properties such as detergency and foam formation, biosurfactants are suitable for various agricultural applications, particularly in pesticide and agrochemical formulations. They can function as biopesticides to manage pests, pathogens, phytopathogenic fungi, and weeds due to their antimicrobial activity. Moreover, plants can benefit from biosurfactant molecules and microorganisms as nutrients. They can also aid efficiently in the distribution of micronutrients and metals in the soil. They also stimulate plant immunity and are utilized for soil hydrophilization to ensure proper moisture levels and uniform fertilizer distribution. This review aims to provide valuable insights into the role and properties of biosurfactants as agricultural adjuvants, fostering the development of sustainable formulations to replace the chemical surfactants used in pesticides. For this purpose, the general aspects of global agricultural activity are initially described, followed by a discussion of pesticides, including herbicides, fungicides, and insecticide products. Next, the properties of chemical surfactants are discussed and the use of green surfactants, with emphasis on microbial biosurfactants, is demonstrated. The application of biosurfactants in the agricultural industry and trends are addressed and prospects for the application of these agents are discussed.

**Keywords:** biosurfactants; sustainable agriculture; adjuvant; pesticide; plant pathogen; remediation



**Citation:** Silva, M.d.G.C.; Medeiros, A.O.; Converti, A.; Almeida, F.C.G.; Sarubbo, L.A. Biosurfactants Promising Biomolecules for Agricultural Applications. *Sustainability* **2024**, *16*, 449. <https://doi.org/10.3390/su16010449>

Academic Editor: Antonio Ziarro

Received: 9 October 2023

Revised: 13 November 2023

Accepted: 3 January 2024

Published: 4 January 2024



**Copyright:** © 2024 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

#### 1. Introduction

The demand for food and agricultural products has significantly increased since the 1990s due to population growth, urbanization, rising income, and production incentives. According to the United Nations average projection, the population is expected to reach around 10 billion people by 2050. As a result, international agreements and regulatory frameworks for sustainable development in the coming decades have been established to promote the sustainable use of natural resources, mitigation of climate change impacts, and