



**Nayara Araújo Cardoso  
Renan Rhonalty Rocha  
Maria Vitória Laurindo  
(Organizadores)**

**As Ciências Biológicas e da  
Saúde na Contemporaneidade 2**

**Atena**  
Editora  
Ano 2019

Nayara Araújo Cardoso  
Renan Rhonaly Rocha  
Maria Vitória Laurindo  
(Organizadores)

# As Ciências Biológicas e da Saúde na Contemporaneidade 2

Atena Editora  
2019

2019 by Atena Editora

Copyright © da Atena Editora

Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Diagramação e Edição de Arte: Natália Sandrini e Lorena Prestes

Revisão: Os autores

### Conselho Editorial

- Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas  
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília  
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa  
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná  
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista  
Profª Drª Deusilene Souza Vieira Dall’Acqua – Universidade Federal de Rondônia  
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria  
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná  
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice  
Profª Drª Juliane Sant’Ana Bento – Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense  
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão  
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará  
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista  
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas  
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande  
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

#### Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)

C569 As ciências biológicas e da saúde na contemporaneidade 2 [recurso eletrônico] / Organizadores Nayara Araújo Cardoso, Renan Rhonalty Rocha, Maria Vitória Laurindo. – Ponta Grossa (PR): Atena Editora, 2019. – (As Ciências Biológicas e da Saúde na Contemporaneidade; v. 2)

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader.

Modo de acesso: World Wide Web.

Inclui bibliografia

ISBN 978-85-7247-216-6

DOI 10.22533/at.ed.166192803

1. Ciências biológicas. 2. Biologia – Pesquisa – Brasil. 3. Saúde – Brasil. I. Cardoso, Nayara Araújo. II. Rocha, Renan Rhonalty. III. Laurindo, Maria Vitória. IV. Série.

CDD 574

**Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422**

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores.

2019

Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

## APRESENTAÇÃO

A obra “As Ciências Biológicas e da Saúde na Contemporaneidade” consiste de uma série de livros de publicação da Atena Editora, em seus 22 capítulos do volume II, apresenta a importância do desenvolvimento de novas pesquisas nos âmbitos da saúde e da natureza e ainda a relevância da busca de novas terapias para o tratamento de variadas patologias.

O desenvolvimento de pesquisas no campo da saúde representa uma ferramenta importante para a busca de novas estratégias para o diagnóstico, acompanhamento do curso e tratamento de doenças. É na área da saúde que a biotecnologia encontra algumas de suas aplicações mais benéficas e abrangentes. Por meio de diferentes vertentes biotecnológicas, como a produção e atuação de organismos geneticamente modificados; a engenharia genética, que permite qualquer tipo de alteração em nível de DNA e experimentos empregando espécies vegetais e/ou compostos isolados para o desenvolvimento de terapias alternativas e aprimoramento das terapias convencionais.

Atualmente a busca por novos compostos com atividade terapêutica é feita majoritariamente através da experimentação de produtos naturais, uma vez que muitos destes têm comprovadas cientificamente suas propriedades antimicrobianas, antioxidantes, anti-inflamatórias, antineoplásicas, analgésicas, entre outras.

Desse modo, este volume II apresenta artigos que tratam: das propriedades antioxidantes de espécies vegetais como o alecrim e o chá verde; estudos microbiológicos e de toxicidade de espécies vegetais e animais; caracterização de ácidos nucleicos e proteínas; emprego da engenharia genética para elucidação de mecanismos de ação e desenvolvimento e experimentação de alimentos funcionais. Assim, esta obra é dedicada aos pesquisadores da área de saúde, que buscam reciclar seus conhecimentos por meio de pesquisas relevantes e se atualizar perante às novas tecnologias e descobertas científicas e biotecnológicas aplicadas às áreas da saúde.

Portanto, esperamos que este livro possa estimular outros estudantes e profissionais de saúde ao desenvolvimento de pesquisas e estudos a fim de incorporar à literatura referências atualizadas e possibilitar a aplicabilidade dos resultados dessas pesquisas às práticas profissionais diárias.

Nayara Araújo Cardoso  
Renan Rhonalty Rocha  
Maria Vitória Laurindo

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>1</b>
A BIOLOGIA SINTÉTICA E ENGENHARIA METABÓLICA PARA DESENVOLVIMENTO DE SOLUÇÕES EM BIOTECNOLOGIA	
Mauricio Schiavo Gabriel Dall'Alba Mauricio Moura da Silveira Sergio Echeverrigaray	
<b>DOI 10.22533/at.ed.1661928031</b>	
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	<b>18</b>
A CONSTRUÇÃO DE MODELOS DIDÁTICOS DA ESTRUTURA DO DNA COM MATERIAIS ALTERNATIVOS: CRIANDO E APRENDENDO	
Maria da Conceição dos Reis Leal João Gabriel Rangel Gonçalves	
<b>DOI 10.22533/at.ed.1661928032</b>	
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	<b>28</b>
ALECRIM ( <i>Rosmarinus officinalis</i> L.): EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS ANTIOXIDANTES E SUA IMPORTÂNCIA NO CONTROLE DA DOENÇA MANCHA FOLIAR EM PLANTAS DE CEVADA	
Fernando Luquis Brenda Mery Santos de Godoy Cristiane Santana Garcia Victor Alves Franklin Luciana Leite Oliveira Nilsa Sumie Yamashita Wadt Vinicius de Oliveira Cardoso Erna Elisabeth Bach	
<b>DOI 10.22533/at.ed.1661928033</b>	
<b>CAPÍTULO 4</b> .....	<b>37</b>
ALELOPATIA DE EXTRATOS AQUOSOS DE <i>Eragrostis lugens</i> Nees. NA GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO INICIAL DE <i>Oryza sativa</i> L	
Daniela Sponchiado Jéssica Cezar Cassol Douglas de Lima Righi Lucas Menezes Jorge Eduarda Mena Barreto Juçara Terezinha Paranhos	
<b>DOI 10.22533/at.ed.1661928034</b>	

**CAPÍTULO 5 ..... 45**

AVALIAÇÃO DA GENOTOXICIDADE DE *COMBRETUM LEPROSUM MART.*: TESTE *ALLIUM CEPA*

Raidan Costa Rodrigues  
Valéria Moura de Carvalho  
Jadielson da Silva Santos  
Brenda Lois Barros dos Santos  
Andressa Jordanne Pereira Ramos  
Cairo Hilbert Santos de Melo  
Juliane Moreira Ramos  
Elizângela de Carvalho Nunes  
Sâmya Katya Barros Guimarães  
Wanderson Ferreira Martins  
Adão Correia Maia  
Kelly Maria Rêgo da Silva  
Mateus Sávio Amorim  
Antonio Lima Braga

**DOI 10.22533/at.ed.1661928035**

**CAPÍTULO 6 ..... 50**

AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS DE ALECRIM (*ROSMARINUS OFFICINALIS*) E CHÁ VERDE (*CARMELLIA SINENSIS*) EM LINGUIÇAS FRESCAL BOVINA

Thaís Cidarta Melo Barbosa  
Juliana Nobrega Clemente  
Karina da Silva Chaves  
Sthelio Braga da Fonseca  
Bruno Raniere Lins de Albuquerque Meireles

**DOI 10.22533/at.ed.1661928036**

**CAPÍTULO 7 ..... 61**

AVALIAÇÃO DO USO DE AÇÚCAR NA TERAPIA TÓPICA DE FERIDAS

Ingrid dos Santos Farias  
Emanuelle Karine Frota Batista  
Hebelys Ibiapina da Trindade  
Janayna Batista Barbosa de Sousa Muller  
Maria José Lima Nascimento  
Evanita da Rocha Luz  
Maria do Carmo de Souza Batista

**DOI 10.22533/at.ed.1661928037**

**CAPÍTULO 8 ..... 71**

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA VITAMINA C SOBRE A DEFESA ANTIOXIDANTE ENZIMÁTICA NA FASE AGUDA DA DOENÇA DE CHAGAS EM CAMUNDONGOS EXPERIMENTALMENTE INFECTADOS COM A CEPA QM2 DE *Trypanosoma cruzi*

Patrícia Milani de Moraes  
Bruna de Lima Pereira  
Ludmyla Toller Cocco  
Luciamare Perinetti Alves Martins

**DOI 10.22533/at.ed.1661928038**

<b>CAPÍTULO 9</b> .....	<b>84</b>
AVALIAÇÃO DOS ÍNDICES DE REGENERAÇÃO HEPÁTICA NO MODELO EXPERIMENTAL DE HEPATECTOMIA A 70%	
Luz Marina Gonçalves de Araujo Oliveira Pedro Luiz Squilacci Leme Maria Cristina Chavantes	
<b>DOI 10.22533/at.ed.1661928039</b>	
<b>CAPÍTULO 10</b> .....	<b>94</b>
BIOTECNOLOGIA NO CONTROLE DE MOSQUITOS TRANSMISSORES DE ARBOVIROSES: BIOENSAIOS PARA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE INSETICIDA EM MOSQUITOS ADULTOS	
Fabíola da Cruz Nunes Louise Helena Guimarães de Oliveira Patrícia Alexandria Paiva Silva de Sousa Hyago Luiz Rique	
<b>DOI 10.22533/at.ed.16619280310</b>	
<b>CAPÍTULO 11</b> .....	<b>103</b>
COMPOSTOS BIOATIVOS E POTENCIAL NUTRACÊUTICO DO FRUTO DE BURITI ( <i>Mauritia flexuosa</i> L) NA TERAPIA COADJUVANTE EM PORTADORES DE DISLIPIDEMIA	
Joilane Alves Pereira-Freire Vivianne Rodrigues Amorim Fernanda Maria de Carvalho Ribeiro Stella Regina Arcanjo Medeiros Jurandy do Nascimento Silva Paulo Michel Pinheiro Ferreira	
<b>DOI 10.22533/at.ed.16619280311</b>	
<b>CAPÍTULO 12</b> .....	<b>116</b>
DESENVOLVIMENTO DE MICROPARTÍCULAS DE ALGINATO DE CÁLCIO PARA IMOBILIZAÇÃO DE <i>Chlorella vulgaris</i>	
Felipe de Albuquerque Santos Eduardo Bittencourt Sydney Alessandra Cristine Novak Sydney	
<b>DOI 10.22533/at.ed.16619280312</b>	
<b>CAPÍTULO 13</b> .....	<b>127</b>
DESENVOLVIMENTO DE PÃO DE FORMA CONTENDO FARINHA MISTA DE MARACUJÁ E JABUTICABA	
Jamilly Salustiano Ferreira Constantino Julice Dutra Lopes	
<b>DOI 10.22533/at.ed.16619280313</b>	
<b>CAPÍTULO 14</b> .....	<b>143</b>
DETERMINAÇÃO DO EHL (EQUILÍBRIO-HIDROFÍLICO LIPOFÍLICO) DO ÓLEO DE ABACATE	
Laíssa Aparecida Praxedes dos Reis Alessandra Cristine Novak Sydney	
<b>DOI 10.22533/at.ed.16619280314</b>	

**CAPÍTULO 15 ..... 150**

ESTUDO DA TOXICIDADE DE *Combretum leprosum* Mart.: TESTE *ALLIUM CEPA*

Valéria Moura de Carvalho  
Raidan Costa Rodrigues  
**Kelly Maria Rêgo da Silva**  
Elizângela de Carvalho Nunes  
Sâmya Katya Barros Guimarães  
Brenda Lois Barros dos Santos  
Cairo Hilbert Santos de Melo  
Juliane Moreira Ramos  
Wanderson Ferreira Martins  
Gabrielle Costa Bento Campos  
Adão Correia Maia  
Antonio Lima Braga  
Jadielson dos Santos

**DOI 10.22533/at.ed.16619280315**

**CAPÍTULO 16 ..... 155**

ESTUDO E MODELAGEM CINÉTICA HETEROGÊNEA DA REAÇÃO DE CETALIZAÇÃO DO GLICEROL COM ACETONA UTILIZANDO ZEÓLITAS DO TIPO H-BEA E H-FER COMO CATALISADORES

Vinicius Rossa  
Gisel Chenard Díaz  
Yordanka Reyes Cruz  
Sibele Berenice Castellã Pergher  
Donato Alexandre Gomes Aranda

**DOI 10.22533/at.ed.16619280316**

**CAPÍTULO 17 ..... 171**

ESTUDOS MICROBIOLÓGICOS DAS FOLHAS DA *Eugenia uniflora* Linn. (PITANGA)

Giovanna Gabrielly Alves da Silva Fraga  
Maria Gabrielle de Oliveira Tabosa  
Emilay Lira de Freitas  
Leticia Vieira dos Santos Beserra  
Arquimedes Fernandes Monteiro de Melo  
Risonildo Pereira Cordeiro

**DOI 10.22533/at.ed.16619280317**

**CAPÍTULO 18 ..... 177**

NEW PROCESS FOR OBTAINING NANOCHITOSAN / BURITI OIL (*Mauritia flexuosa*) BIOCOMPOSITE: A BIOMATERIAL FOR REGENERATIVE MEDICINE AND TISSUE ENGINEERING

Júlia Silveira Broquá  
Luciano Pighinelli  
Magda Comoretto Gall  
Jader Figueiredo  
Giovani André Piva  
Lucas Eduardo Lopes  
Machado, Pamela Persson  
Anderson Rockenbach  
Renata Pospichil  
Luan Rios Paz  
Fernando Guimarães  
Gabrielle Zanin  
Marzena Kmiec Pighinelli

**DOI 10.22533/at.ed.16619280318**

**CAPÍTULO 19 ..... 192**

*PORPHYROMONAS GINGIVALIS* NA PERIODONTITE: POR QUE ESTUDAR SEUS FATORES DE VIRULÊNCIA COM FERRAMENTAS *IN SILICO*?

Ellen Karla Nobre dos Santos-Lima  
Larissa de Mattos Oliveira  
Michelle Miranda Lopes Falcão  
Manoelito Coelho dos Santos Junior  
Márcia Tosta Xavier  
Soraya Castro Trindade

**DOI 10.22533/at.ed.16619280319**

**CAPÍTULO 20 ..... 211**

PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE BIOSURFACTANTES PRODUZIDOS POR *Bacillus subtilis* A PARTIR DO EXTRATO AQUOSO DA ALGAROBA [*Prosopis juliflora* (SW) DC] COMO SUBSTRATO NÃO CONVENCIONAL

Adrielly Silva Albuquerque de Andrade  
Emanuele Cardoso Dias  
Napoleão José de Oliveira Neto  
Graciana Clécia Dantas  
Adna Cristina Barbosa de Sousa  
Andréa Farias de Almeida

**DOI 10.22533/at.ed.16619280320**

**CAPÍTULO 21 ..... 224**

SUPLEMENTAÇÃO COM DIFERENTES NUTRACÊUTICOS ATENUA PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS CARACTERÍSTICOS DO TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA

Ana Olívia Martins Laurentino  
Naiana da Rosa  
Tamires Mateus Gomes  
Eduardo de Medeiros Peretti  
Fabiana Durante de Medeiros  
Jucélia Jeremias Fortunato

**DOI 10.22533/at.ed.16619280321**

**CAPÍTULO 22 ..... 231**

USO DO EXTRATO DE *Ganoderma lucidum* NO CONTROLE DA MANCHA FOLIAR EM PLANTAS DE CEVADA PROTEGENDO O MEIO AMBIENTE

Ricardo Zanirato da Costa Fernandes  
Lorena de Cássia Barboza Pires  
Jessica Pojato da Silva  
Joseanne Meira Cambuí  
Edgar Matias Bach Hi  
Vinicius de Oliveira Cardoso  
Erna Elisabeth Bach

**DOI 10.22533/at.ed.16619280322**

**SOBRE OS ORGANIZADORES..... 239**

## PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE BLOSSURFACTANTES PRODUZIDOS POR *Bacillus subtilis* A PARTIR DO EXTRATO AQUOSO DA ALGARROBA [*Prosopis juliflora* (SW) DC] COMO SUBSTRATO NÃO CONVENCIONAL

### **Adrielly Silva Albuquerque de Andrade**

Universidade Federal da Paraíba, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia – Mestrado, João Pessoa – PB.

### **Emanuele Cardoso Dias**

Universidade Federal da Paraíba, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia – Mestrado, João Pessoa – PB.

### **Napoleão José de Oliveira Neto**

Universidade Federal da Paraíba, Graduando em Biotecnologia, João Pessoa – PB.

### **Graciana Clécia Dantas**

Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Natal – RN.

### **Adna Cristina Barbosa de Sousa**

Universidade Federal da Paraíba, Departamento de Biologia Celular e Molecular, João Pessoa – PB.

### **Andréa Farias de Almeida**

Universidade Federal da Paraíba, Departamento de Biotecnologia, João Pessoa – PB.

**RESUMO:** Biossurfactantes são moléculas anfipáticas sintetizadas por microrganismos que agem em interfaces água/óleo ou óleo/água reduzindo as tensões superficiais e interfaciais entre as fases fluidas e assim tornando alguns compostos mais miscíveis. Apresentam alto custo de produção, consequência do valor do substrato e dos métodos de purificação

utilizados no processo industrial. A estratégia de substituição de substratos convencionais para sua produção (como glicose e sacarose) por substratos oriundos de fontes renováveis, mais baratos e ricos em nutrientes para o cultivo de microrganismos produtores de biossurfactantes é essencial para viabilizar sua produção em escala industrial. Dessa forma, foram realizados dois processos para produção de biossurfactantes: meio contendo sacarose (convencional), e o outro, o extrato aquoso obtido das vagens da algaroba [*Prosopis juliflora* (SW) DC.] como substrato para o desenvolvimento do *Bacillus subtilis*. Os cultivos foram acompanhados durante 96 horas e a produção do biossurfactante foi caracterizada pelos testes de emulsificação, purificação (centrifugação, precipitação ácida e extração líquido-líquido) e determinação da sua atividade antimicrobiana. Os métodos de precipitação ácida e extração líquido-líquido recuperaram uma produção de biossurfactantes de 0,064g/L e 1,208g/L, respectivamente, sacarose e extrato aquoso da algaroba. Além disso, os biossurfactantes produzidos demonstraram boa capacidade emulsificante quando colocados em contato com três compostos hidrofóbicos diferentes (óleo vegetal, óleo de motor e querosene) e atividade antimicrobiana com relação aos microrganismos *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus* e *Pseudomonas sp.*

**PALAVRAS-CHAVE:** Emulsificantes, surfactina, atividade antimicrobiana e biorreatores

**ABSTRACT:** Biosurfactants are amphipathic molecules synthesized by microorganisms that act at water/oil or oil/water interfaces, reducing surface and interfacial tensions between the fluid phases and thus making some compounds more miscible. They present high cost of production, consequence of the value of the substrate and the purification methods used in the industrial process. The strategy of replacing conventional substrates for their production (such as glucose and sucrose) by substrates from renewable sources, cheaper and rich in nutrients for the culture of microorganisms producing biosurfactants is essential to enable their production on an industrial scale. Thus, two processes were carried out to produce biosurfactants: medium containing sucrose (conventional), and the other the aqueous extract obtained from the algaroba pods [*Prosopis juliflora* (SW) DC] as a substrate for the development of *Bacillus subtilis*. The cultures were monitored for 96 hours and the biosurfactant production was characterized by emulsification, purification (centrifugation, acid precipitation and liquid-liquid extraction) tests and determination of their antimicrobial activity. The acid precipitation and liquid-liquid extraction methods recovered a biosurfactant production of 0.064g/L and 1.208g/L, respectively, sucrose and aqueous extract of the algaroba. In addition, the biosurfactants produced showed good emulsifying capacity when placed in contact with three different hydrophobic compounds (vegetable oil, motor oil and kerosene) and antimicrobial activity with respect to the microorganisms *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus* and *Pseudomonas* sp.

**KEYWORDS:** Emulsifiers, surfactin, antimicrobial activity and bioreactors.

## 1 | INTRODUÇÃO

Biosurfactantes são moléculas anfipáticas, constituídas de uma porção hidrofílica e uma porção hidrofóbica, sintetizadas por microrganismos que agem nas interfaces água/óleo ou óleo/água reduzindo as tensões superficiais e interfaciais entre elas e assim tornando alguns compostos mais miscíveis (BANAT *et al.*, 2010). A porção apolar é frequentemente uma cadeia hidrocarbonada enquanto a polar pode ser iônica (aniônica ou catiônica), não-iônica ou anfotérica. Essa constituição molecular confere a capacidade de diminuir a tensão superficial entre fases fluidas, como água e óleo ou ar e água (DESAI e BANAT, 1997).

A formação de um filme molecular, ordenado nas interfaces, reduz a tensão interfacial e superficial, sendo responsável pelas propriedades únicas dos surfactantes, como a capacidade de adsorção, formação de micelas, formação de macro e microemulsões, lubrificação, ação espumante, solubilização e detergência. Devido essa propriedade, várias são as aplicações industriais que envolvem o uso de biosurfactantes, como indústria de petróleo no processo de recuperação melhorada de petróleo (MEOR) (BANAT *et al.*, 2000; SEN, 2008); farmacêutica e de cosméticos como a capacidade de formar emulsões estáveis associada à boa compatibilidade com

pele e cabelos; na agricultura para a formulação de herbicidas e pesticidas (COSTA, 2005); na produção de produtos de higiene pessoal, detergentes, processamento de alimentos como agentes emulsionantes conferindo a consistência e textura dos alimentos (BANAT *et al.*, 2000); tratamento e processamento de metais, vestuário, processamento de polpas de papel (NITSCHKE e PASTORE, 2002).

A maioria dos surfactantes convencionais produzidos atualmente é derivada do petróleo e constituem compostos tóxicos e não biodegradáveis, fatores que justificam a busca por alternativas menos nocivas ao ambiente e ao homem, uma vez que existe a preocupação com os efeitos alérgicos dos produtos artificiais. Os biossurfactantes apresentam maior eficiência quando comparados aos surfactantes convencionais: menor concentração micelar crítica (CMC), biodegradabilidade, maior taxa de redução da tensão superficial, solubilidade em água alcalina, estabilidade térmica, estabilidade em valores extremos de pH, a baixa toxicidade dos biossurfactantes permite então seu uso em alimentos, cosméticos e produtos farmacêuticos (VIJAYAKUMAR e SARAVANAN, 2015).

Os biossurfactantes podem ser sintetizados a partir de substratos que contenham altos níveis de carboidratos ou de lipídeos, suprimindo a necessidade de fonte de carbono para sua produção (NITSCHKE; FERRAZ; PASTORE, 2004). Embora essas biomoléculas apresentem inúmeras vantagens sobre os surfactantes sintéticos os custos para sua produção ainda constituem um entrave para sua utilização em ampla escala. O desenvolvimento de processos que reduzam custos de matérias primas permitiria o sucesso da produção de biossurfactantes uma vez que estes são responsáveis por cerca de 30% de todo custo de produção (MAKKAR e CAMEOTRA, 2002). A fim de baratear sua produção, estratégias de utilizar substratos não convencionais, obtidos de fontes renováveis, são desejáveis.

A algaroba [*Prosopis juliflora* (SW) D.C.] é uma leguminosa arbórea, não oleaginosa, da família Fabaceae, originária das Américas, mais especificamente em Piúra no Peru, (encontrada desde a América do Norte a Central e Sul) e também na África Tropical. Chegou no Brasil há mais de 50 anos, estando difundida na região Nordeste, em populações cultivadas e subespontâneas (SILVA *et al.*, 2002). De acordo com Lima (1988), o interesse e a grande difusão desse gênero no semiárido nordestino pode ser atribuída as suas diversas características como: adaptar-se a solos e climas severos; rápida taxa de crescimento; alta palatabilidade como forragem; produtividade; capacidade de rebrotar e resistir a podas e ao pastejo; e resistência a pragas e doenças. Além de sua rusticidade e por frutificar na época mais seca do ano, sendo a única fonte alimentar economicamente viável que permite a sobrevivência da criação de bovinos e caprinos (SILVA *et al.*, 2003). Seu fruto é uma vagem rica em proteína, gordura, vitaminas, sais minerais e, principalmente, açúcar (BORGES, 2004), que normalmente no período de seca é utilizada como ração animal.

As vagens de algaroba, quando maduras, possuem elevado teor de sacarose e matéria seca de aproximadamente 84,0%. Silva *et al.* (2002) relataram que essa

produção comprova o potencial dessas vagens como aditivos em silagens de capim. Os mesmos autores, reportaram ainda grande aceitabilidade da algaroba, por possuir teores de 25 a 28% de glicose, 11 a 17% de proteínas e 14 a 20% de ácidos orgânicos, pectinas entre outras substâncias. O resíduo da algaroba é classificado com concentrado energético, pois possui alto teor de sacarose, e é bastante aceito na suplementação alimentar dos animais pelo seu aroma agradável (MAGALHÃES, 2007). Carvalho *et al.* (2006) estudaram as opções de alimentos alternativos de maior valor nutritivo e que possam vir futuramente como alternativa na substituição de alimentos de alto custo financeiro, como o milho e a soja. Portanto, mostrando-se ter um potencial alimentício de mais baixo custo.

Neste contexto, para o processo de produção de biossurfactantes foi utilizado o extrato aquoso obtido das vagens da algaroba, como fonte de carbono não convencional, para o desenvolvimento *Bacillus subtilis* UFPEDA 16, linhagem produtora de biossurfactantes como subtilisina e surfactina.

## 2 | MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Microrganismo

O microrganismo utilizado no processo de produção de biossurfactantes foi a linhagem *Bacillus subtilis* (UFPEDA 16) cedido da Coleção de Microrganismos do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco.

### 2.2 Manutenção das linhagens

As culturas foram mantidas em meio Ágar Nutriente. A renovação das células foi realizada mensalmente por repiques e incubação a 30°C durante 24 horas e depois armazenadas a 4°C.

### 2.3 Substrato

No processo de produção de biossurfactantes foi utilizado o extrato aquoso obtido da prensagem das vagens da algaroba. As vagens da algaroba foram coletadas da região semiárida do Rio Grande do Norte, especificamente na zona rural do município de Japi – RN.

O extrato aquoso da algaroba foi obtido com base na metodologia descrita por Silva *et al.* (2009), as vagens foram devidamente selecionadas, descartando as atacadas por fungos e insetos. Pesadas e sanitizadas por meio da imersão em uma solução de hipoclorito de sódio a 3%(v/v) durante 5 minutos. A remoção dos resíduos sanitizantes foi realizada por lavagens sucessivas em água corrente. Em seguida, foram hidratadas em água destilada aquecida a  $65 \pm 2^\circ\text{C}$ , na proporção de 1:1 (m/v) (1kg de vagem para 1L de água) durante 3 horas para melhor extração dos açúcares

disponíveis.

Para prensagem foi utilizada uma prensa hidráulica manual, em que a matéria-prima foi inserida em um cilindro de aço inoxidável perfurado e submetidas a uma pressão de 50Kgf/cm<sup>2</sup>.

## 2.4 Processo de produção de biossurfactantes

Foram realizados dois processos em cultivo submerso. O primeiro processo foi utilizado como fonte de carbono a sacarose (padrão), e o segundo foi utilizado o extrato aquoso da algaroba como fonte de carbono, ambos sendo desenvolvidos em biorreator de bancada de 4,5L (Tecnal).

1° Processo	2° Processo
20g/L de sacarose	1% (v/v) de extrato de algaroba
3,0g/L KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	3,0g/L KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>
7,0g/L K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	7,0g/L K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>
0,2g/L MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,2g/L MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O
1,0g/L (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1,0g/L (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
	1,0g/L de extrato de levedura

Tabela 1 – Composição dos meios utilizados no processo de produção de biossurfactantes em biorreator de bancada

\*Em ambos, o pH foi ajustado para 6,8.

Os inóculos foram preparados por meio da transferência, com alça de platina, de colônias isoladas crescidas em tubos inclinados com meio de manutenção Ágar Nutriente para frascos erlenmeyers de 250mL contendo 100mL de meio de cultura para o processo, obedecendo uma razão de aeração de 40%, e incubados a 37°C sob agitação de 200rpm em incubadora rotativa orbital (SL 422 - Solab). O crescimento microbiano foi acompanhado pela determinação da absorbância dos meios de cultivos a 600nm (D.O.600nm). Os inóculos foram adicionados ao cultivo, na proporção de 10% (v/v), quando a absorbância se encontrava entre 0,6 e 0,8 (HISS, 2001).

O cultivo com sacarose (substrato padrão) foi realizado em biorreator de bancada com as seguintes condições de processo: volume útil de 4,5L contendo 2L de meio de cultura, sob agitação de 150rpm, com uma vazão de 1L/min de ar esterilizado, a 37°C e pH controlado a 6,8. A espuma (alta concentração de biossurfactante) gerada durante o cultivo foi coletada por meio de um dispositivo acoplado no biorreator (Figura 1), a fim de ser utilizada nos testes de emulsificação e na determinação da atividade antimicrobiana.

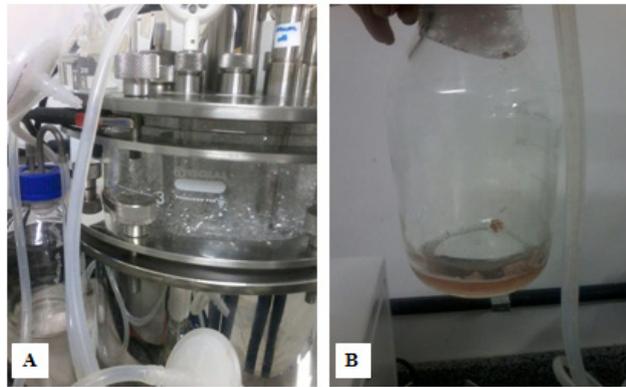


Figura 1 – Biorreator durante o processo de produção de biossurfactantes com sacarose como substrato, como é demonstrado em A. Em B, o frasco acoplado ao sistema para a coleta das espumas.

Fonte: autores, 2018

O cultivo com extrato aquoso da algaroba (substrato não convencional) foi realizado em biorreator nas mesmas condições citadas no processo com a sacarose (substrato padrão).

## 2.5 Análises dos processos fermentativos

Em tempos regulares, os cultivos foram analisados quanto à concentração de microrganismos, concentração de substrato e produção do biossurfactante por determinação do índice de emulsificação.

### 2.5.1 Concentração de microrganismo (biomassa)

O crescimento microbiano foi acompanhado pelo método gravimétrico. A determinação do peso seco consistia em adicionar 2mL de caldo fermentado ao microtubo de massa conhecida, centrifugar (10000 rpm por 10 minutos, MiniSpin Plus) e, após centrifugação, o sobrenadante era descartado.

A fração sólida sedimentada foi pesada e colocada em estufa a 80 °C por 24h. Em seguida, a fração sólida livre de umidade foi pesada. O procedimento foi realizado em triplicata. O peso seco foi determinado de acordo com a Equação 1.

$$\text{Peso seco} \left( \frac{g}{mL} \right) = \frac{(\text{peso do microtubo com massa seca}) - (\text{peso do microtubo})}{\text{volume da amostra}} \quad (1)$$

### 2.5.2 Quantificação do substrato

A quantificação de substrato foi realizada pela análise do sobrenadante (caldo fermentado isento de células). Para determinação dos açúcares redutores totais utilizou-se o método DNS (ácido 3,5-dinitro salicílico) descrito por Miller (1959) e adaptada

por Santos (2007). A concentração dos açúcares redutores totais foi determinada após hidrólise da amostra, uma vez que o extrato de algaroba é rico em sacarose. A curva padrão de glicose (1g/L) foi utilizada para quantificação dos açúcares redutores presentes na amostra. Cada amostra foi analisada em triplicata.

### 2.5.3 Quantificação do biossurfactante

A produção de biossurfactante foi determinada pelo índice de emulsificação ( $IE_{24}$ ) com base na metodologia descrita por Cooper e Goldenberg (1987). Em três colunas graduadas, adicionou-se três tipos de compostos hidrofóbicos (óleo de motor, óleo vegetal e querosene) e o sobrenadante do cultivo na proporção (3:2). Todos os tubos foram agitados em vórtex durante 2 minutos e deixados em repouso durante 24 horas. A porcentagem de emulsificação foi determinada pela Equação 2:

$$IE_{24} (\%) = \frac{\text{altura da camada emulsificada}}{\text{altura total}} \times 100 \quad (2)$$

## 2.6 Processo de purificação de biossurfactantes

### 2.6.1 Acidificação do sobrenadante

Os sobrenadantes de ambos os processos foram acidificados com ácido clorídrico a 3,0 M até atingir o pH 2,0. Após, foram mantidos a 4°C por 24 horas para precipitação do biossurfactante produzido. Os precipitados foram separados por centrifugação a 15000rpm por 10 min (MiniSpin plus, Eppendorf). Todo precipitado foi dissolvido em 10mL de água deionizada (pH 8,0).

### 2.6.2 Processo de extração líquido-líquido

Extração do biossurfactante obtido no processo com sacarose: a solução resultante da acidificação foi transferida para um funil de separação e submetida à extração com diclorometano (1:1). Agitou-se, vigorosamente, por 5 minutos. Seguido por 1 hora de repouso para atingir a completa separação de fases. A fase mais densa foi retirada do funil. Adicionou-se 2mL de metanol, a fim de transferir o produto para o microtubo. O metanol foi evaporado. E o produto foi ressuspenso em 1mL de água deionizada.

Extração do biossurfactante obtido no processo com extrato aquoso da algaroba: a solução resultante foi transferida para um funil de separação e submetida à extração com diclorometano (1:1). Agitou-se, vigorosamente, por 5 minutos. Seguido por 1 hora de repouso para que a completa separação de fase. A fase mais densa foi retirada do funil. Em seguida, foi realizada uma nova extração com diclorometano, clorofórmio e

metanol (1:1:1:1). Agitou-se por 5 minutos. Repouso por 1 hora. Novamente, a fase mais densa foi retirada e submetida a uma nova extração com clorofórmio e metanol (1:1:1). Agitou-se por 5 minutos e repouso por 1 hora. A fase resultante foi transferida para um microtubo e centrifugada a 14.000g por 5 minutos. O sobrenadante foi descartado. Após evaporação dos solventes, o produto foi ressuspenso em 1,0mL de água deionizada.

## 2.7 Determinação da atividade antimicrobiana

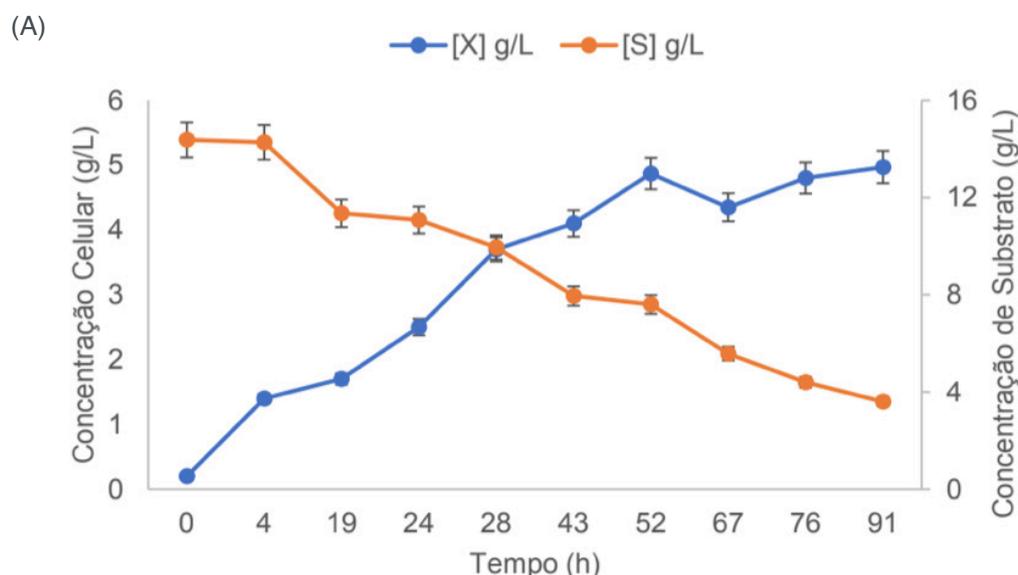
Para avaliação da atividade antimicrobiana foi utilizado os seguintes microrganismos: *Bacillus pumilus*, isolado do solo cultivado da cana-de-açúcar da região de Santa Rita/PB, *Pseudomonas sp.* cedido pelo Laboratório de Microbiologia Ambiental do Centro de Biotecnologia da Universidade Federal da Paraíba e *Bacillus sp.* cedido pelo Laboratório de Biotecnologia Celular e Molecular do Centro de Biotecnologia da Universidade Federal da Paraíba.

As linhagens foram repicadas em placas de Petri com 10mL de meio de manutenção e incubadas por 24 horas a 37°C. Em seguida, foi adicionado 100µL do biossurfactante em discos de papel de filtro com diâmetro de 2,7cm e, após as placas foram deixadas em repouso por mais 24 horas.

## 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Produção de biossurfactantes

As curvas mostradas na Figura 2A e 2B descrevem o crescimento celular, o consumo de substrato durante o processo de produção de biossurfactantes utilizando os substratos sacarose e extrato aquoso de algaroba, respectivamente.



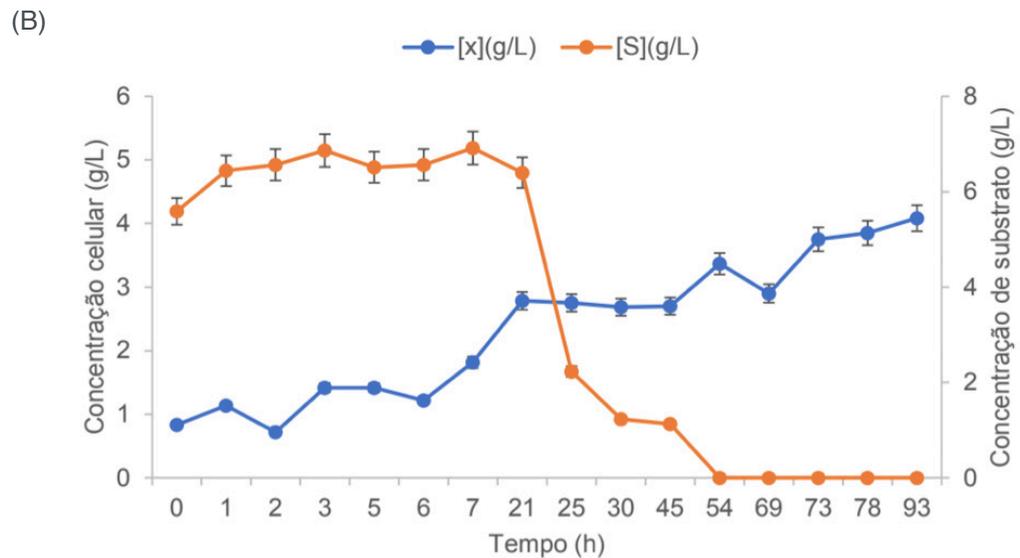


Figura 2 – Curvas de crescimento celular e consumo de substrato durante o processo de produção de biossurfactantes

Pela análise das curvas de crescimento microbiano, verifica-se que a linhagem *Bacillus subtilis* UFPEDA 16 adaptou-se ao sistema de cultivo proporcionado para ambos os substratos. A fase exponencial de crescimento foi observada de 0 a 52 horas de processo para o substrato sacarose e de 2 a 21 horas para o extrato aquoso da algaroba, e a fase de estacionária foi estabelecida após esses períodos. Embora normalmente cultivado em meio contendo sacarose como principal fonte de carbono, a análise demonstra que a linhagem microbiana tem habilidade para se desenvolver em outro substrato mais complexo.

No meio com sacarose, observa-se um rápido crescimento e maior duração da fase exponencial durante o cultivo. A concentração celular máxima obtida foi de 4,75 g.L<sup>-1</sup> e um consumo de sacarose de 6,78 g.L<sup>-1</sup> em 52 horas.

Segundo Desai e Banat (1997), o estudo cinético relata muitas variações na produção de biossurfactantes. Em casos específicos, a maior produção é observada nas condições limitantes do crescimento, pela limitação do nitrogênio entre outros fatores. Alguns autores defendem a teoria de que os biossurfactantes apresentam maiores concentrações no final da fase estacionária e início da estacionária. Besson e Michel (1992) afirmaram que em *B. subtilis*, o biossurfactante surfactina, já é produzida na fase exponencial de crescimento, ainda que em pequenas concentrações. O produto formado pode estar ou não associado ao crescimento celular, pois dependerá de diversos fatores inclusos, como: o microrganismo proposto como agente transformador ou até mesmo, o meio de cultivo a ser utilizado no processo (DEBON, 2015).

Como forma de identificar a presença de biossurfactante no processo, foi determinado o índice de emulsificação dos sobrenadantes obtidos em cada um dos cultivos analisados. As análises de índice de emulsificação estão ilustradas na Figura 3.

Ao observar a Figura 3, constata-se que os índices de emulsificação foram

similares, apresentando um índice médio de 54% de emulsão.

As análises realizadas com o querosene apresentaram emulsificação apenas com a espuma e com o sobrenadante do cultivo com sacarose, provavelmente pela característica do processo ter um meio de cultura apenas com reagentes sintéticos, uma vez que o biossurfactante produzido presente na espuma não possui alta concentração de metabólitos oriundos do cultivo.

Os melhores resultados foram obtidos quando os sobrenadantes dos cultivos com sacarose e extrato aquoso da algaroba foram analisados com o óleo de motor. Nestes, a emulsão apresentou maior índice de emulsificação e demonstrou-se bastante estável durante a análise. Porém, a emulsificação com a espuma apresentou um índice menor, mas mantendo-se estável durante o processo.

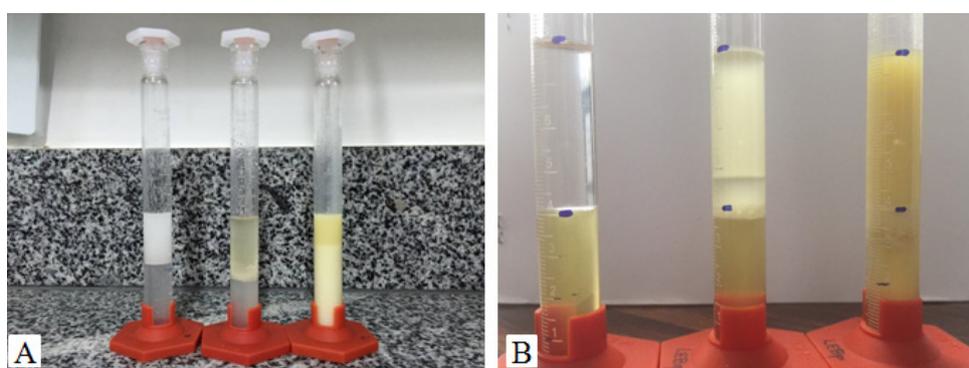


Figura 3 – Testes de emulsificação realizados com os sobrenadantes: (A) emulsificação com o biossurfactante produzido a partir da sacarose (convencional) e (B) emulsificação com o biossurfactante produzido a partir do extrato aquoso da algaroba (não convencional). \*compostos hidrofóbicos da esquerda para direita: querosene, óleo vegetal e óleo de motor

Os índices de emulsificação determinados podem ser acompanhados na Tabela 2:

Teste de emulsificação	1º cultivo		2ºcultivo
	Espuma	Sobrenadante	Sobrenadante
Óleo vegetal	60%	48%	53%
Querosene	40%	45%	0,1%
Óleo de motor	20%	98%	62%

Tabela 2 – Índices de emulsificação representados em porcentagem. No primeiro cultivo foram realizados dois testes, um com a espuma que foi coletada durante o processo fermentativo e outro com o sobrenadante do cultivo de 90 horas. No segundo cultivo o teste foi realizado apenas com o sobrenadante do processo fermentativo de 160 horas.

De acordo com alguns pesquisadores, para que a emulsão seja considerada eficaz, o índice de emulsificação deve ser superior a 40% (YOUSSEF *et al.*, 2004). Logo, desta forma o presente estudo apresentou resultados satisfatórios, quando considerado o composto com características lipofílicas.

### 3.2 Processo de purificação do biossurfactante

A característica do biossurfactante no ponto de vista estrutural permite a sua solubilização em meio alcalino e precipitação em meio ácido. Baseado nessa característica molecular, o sobrenadante do cultivo, em ambos substratos utilizados, foi submetido à precipitação ácida como uma das etapas de recuperação e purificação do biossurfactante produzido.

O processo de purificação do biossurfactante para o cultivo com sacarose apresentou um rendimento da extração igual a 0,064g/L de surfactina. Já a análise da extração do biossurfactante produzido em meio contendo o extrato aquoso da algaroba apresentou um rendimento de 1,208g/L.

Os biossurfactantes produzidos a partir do extrato aquoso de algaroba e sacarose obtiveram comportamentos distintos com relação às análises de caracterização. Para recuperação do biossurfactante produzido a partir da sacarose foi utilizado um processo de extração líquido-líquido somente com o diclorometano, uma vez que a surfactina (biossurfactante produzido por *Bacillus subtilis*) tem maior caráter lipossolúvel devido a sua estrutura molecular. Essa recuperação foi bastante eficiente permitindo a separação do biossurfactante do sistema aquoso do caldo obtido do processo fermentativo.

O processo de extração do biossurfactante produzido a partir do extrato aquoso de algaroba utilizando somente o diclorometano não se apresentou tão eficiente quanto à extração do cultivo com sacarose. Embora tenha observado uma concentração maior no final dessa extração, não se pode afirmar que a extração foi mais eficiente, pois mesmo após o processo de extração, o líquido resultante ainda apresentava alguns resíduos do substrato utilizado, o que pode ter interferido no peso da amostra final. A partir dessa observação, o precipitado formado além de conter a surfactina produzida pelo *Bacillus subtilis*, pode conter ainda outros componentes do próprio extrato aquoso da algaroba, como o polímero galactomana inerente a composição da algaroba, tornando-se a separação mais difícil de ocorrer.

### 3.3 Determinação da atividade antimicrobiana

Os biossurfactantes purificados e a espuma demonstraram ter atividade antimicrobiana frente aos microrganismos *B. subtilis*, *B. pumilus* e *Pseudomonas* sp.

Na Tabela 3, pode-se analisar os diâmetros dos halos formados pela atividade antimicrobiana proporcionada pelos sobrenadantes e a espuma gerados nos processos de produção de biossurfactantes.

Amostra	Microrganismo alvo e tamanho do halo formado (mm)		
	<i>Bacillus</i> sp.	<i>Bacillus pumillus</i>	<i>Pseudomonas</i> sp.
Controle	0,00	0,00	0,00
Biossurfactante (meio sacarose)	0,00	90,0	0,00
Biossurfactante (meio algaroba)	70,0	90,0	10,0
Espuma	125,0	130,0	150,0

Tabela 3 – Resultados da atividade antimicrobiana frente aos microrganismos analisados.

Os biossurfactantes do tipo surfactina têm características terapêuticas, principalmente atividades antimicrobianas, tais análises demonstraram, por meio da formação de halo na placa de cultivo, bastante eficiência com relação à atividade antibiótica frente aos microrganismos analisados. A atividade antimicrobiana foi quantificada, o biossurfactante presente na espuma apresentou a maior atividade microbiana tendo como resultado um halo de 125, 130 e 150mm, respectivamente, no *Bacillus* sp, no *Bacillus pumillus* e *Pseudomonas* sp.

#### 4 | CONCLUSÃO

A utilização do extrato aquoso da algaroba pode ser considerada uma ótima fonte renovável de substrato no cultivo de *B. subtilis* (UFPEDA 16) para produção de biossurfactantes. A atividade emulsificante apresentada (62%) e o poder antimicrobiano são considerados bons resultados para produção da surfactina a partir de um substrato em abundância no nordeste brasileiro. Os métodos de extração do biossurfactante foram eficientes, pois sua recuperação foi obtida com menos etapas possíveis de purificação e atingindo boa reprodutibilidade nas análises de emulsificação e atividade antimicrobiana.

#### REFERÊNCIAS

- BANAT, I.M.; MAKKAR, R.S.; CAMEOTRA, S.S. **Potential comercial applications of microbial surfactants**. Applied Microbiology and Biotechnology. V.53, p.495-508, 2000.
- BANAT, I.M.; FRANZETTI, A.; GANDOLFI, I.; BESTETTI, G.; MARTINOTTI, M.G.; FRACCHIA, L.; SMYTH, T.J.; MARCHANT, R. **Microbial biosurfactants production, applications**. Appl. Microbiol. Biotechnol., v. 87, n. 2, p. 427-444, 2010.
- BESSION, F.; MICHEL, G. **Biosynthesis of iturin and surfactin by Bacillus subtilis: Evidence for aminoacid activating enzymes**. Biotechnology Letters, v.14. 1013-1018, 1992.
- BORGES, I. F., **Obtenção e Caracterização do Melado de Algaroba (Prosopis juliflora) e sua Utilização em uma formulação Alimentícia**. 2004. 83 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2004.

- CARVALHO, G.G.P. **Capim-Elefante emurchecido ou com farelo de cacau na produção de silagem**. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG. 69 p, 2006.
- COOPER, D.G.; GOLDENBERG, B.G. **Surface-active agents from two *Bacillus* species**. Applied and Environmental Microbiology, v. 53, n.2, p.224-229, 1987.
- COSTA, G.A.N. **Produção biotecnológica de surfactantes de *Bacillus subtilis* em resíduo agroindustrial, caracterização e aplicações**. 2005. 101f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.
- DEBON, J. **Produção de biosurfactante por *Bacillus subtilis* ATCC 21332 em condição anaeróbia**. 2015. 165f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Programa de pós-graduação em Engenharia química, Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina, 2015.
- DESAI, J.D.; BANAT, I. M. **Microbial production of surfactants and their commercial potential**. Microbiology and Molecular Biology Reviews, v. 61, p. 47-64, 1997.
- HISS, H. **Cinética de processos fermentativos**. In: SCHMIDELL, W.; LIMA, U.A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.R. (Coord.) Biotecnologia Industrial. São Paulo: Edgard Blucher, p.93-122, 2001.
- LIMA, P. C. F. ***P. Juliflora* mangement at the Brazilian Northeast. In: The current state of knowledge on *Prosopis juliflora***. International Conference on Prosopis. Rome. Anais. Rome: FAO, p.153-162. 1988.
- MAGALHÃES, K.A. **Tabelas brasileiras de composição de alimentos, determinação e estimativa do valor energético de alimentos para bovinos**. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 263 p., 2007.
- MAKKAR, R.S.; CAMEOTRA, S.S. **An update to the use of unconventional substrates for biosurfactant production and their new applications**. Applied Microbiology and Biotechnology, v. 58, p. 428-434, 2002.
- MILLER, G.L. **Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar**. Analytical Chemistry, v. 31, p.426, 1959.
- NITSCHKE, M.; PASTORE, G. M. **Biosurfactantes: propriedades e aplicações**. Química nova, v. 25, n. 5, p. 772-776, 2002.
- NITSCHKE, M.; FERRAZ, C.; PASTORE, G.M. **Selection of microorganisms for biosurfactant production using agroindustrial wastes**. Braz. J. Microbiol., v. 35, n. 1-2, p. 81-85, 2004.
- OLIVEIRA, D. **Produção de biosurfactante por *Bacillus subtilis* LAMI005 utilizando suco de caju clarificado**. 2010. 103 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal do Ceará, Ceará, 2010.
- SEN, R. **Biotechnology in petroleum recovery: the microbial EOR**. Progress in Energy and Combustion Science, v.34, p.714-724, 2008.
- SILVA, J. H. V.; OLIVEIRA, J. N. C.; SILVA, E. L.; et al. **Uso da farinha integral de vagem de algaroba (*Prosopis juliflora* (sw) D.C.) na alimentação de codornas japonesas**. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 31, n.3, p. 1789-1795, 2002
- VIJAYAKUMAR, S.; SARAVANAN, V. **Biosurfactants-types, sources and applications**. Res. J. Microbiol., v. 10, p. 181–192, 2015.

Agência Brasileira do ISBN  
ISBN 978-85-7247-216-6

