

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE LORENA

BRUNA CURRY CARNEIRO

**Conversão de bagaço de cana-de-açúcar em biossurfactante por
Aureobasidium pullulans LB83 utilizando fermentação em estado sólido**

Lorena

2019

RESUMO

CARNEIRO, B. C.; **Conversão de bagaço de cana-de-açúcar em biossurfactante por *Aureobasidium pullulans* LB83 utilizando fermentação em estado sólido.** 2019. 97 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2019

Surfactantes são moléculas com estruturas anfipáticas que podem ser capazes de reduzir a tensão superficial de um líquido e/ou emulsificar substâncias de diferentes polaridades. São aplicados em diversos setores industriais; porém, quando produzidos a partir de matérias-primas não-renováveis, seu uso pode resultar em sérios danos ao meio ambiente. Dessa forma, biossurfactantes (BS), surfactantes naturais, são substitutos interessantes para os surfactantes sintéticos devido a sua biodegradabilidade e baixa toxicidade. No entanto, o custo de produção dos BS ainda não é competitivo quando comparado aos sintéticos. Outro problema na produção de BS é a formação de espuma, entretanto, pode ser evitado ao se utilizar fermentação em estado sólido (FES). Além disso, a FES permite a conversão direta de subprodutos agroindustriais em BS, consequentemente levando à redução de gastos com matéria-prima. Dessa forma, a FES soluciona dois gargalos da produção de BS. Alguns microrganismos produtores de BS não possuem a capacidade de degradar a lignina, o que dificulta o acesso destes às fibras de celulose e hemicelulose. Contudo, o pré-tratamento alcalino da biomassa pode auxiliar o processo, pois, provoca a redução da quantidade de lignina e intumescimento das fibras, facilitando a degradação da biomassa pelos microrganismos. Deste modo, no presente trabalho optou-se por utilizar o fungo leveduriforme *Aureobasidium pullulans* como agente fermentativo, uma vez que este microrganismo não é patogêno como as bactérias geralmente utilizadas para a produção de BS. Como matriz sólida e fonte de carbono para a produção de BS em FES utilizou-se o bagaço de cana-de-açúcar *in natura* e pré-tratado em meio alcalino (PTA). O pré-tratamento do bagaço resultou em remoções de lignina de até 80 %. Nas FES foram alcançados índices de emulsificação superiores a 50 % após 96 e 720 h de cultivo para o bagaço PTA e *in natura*, respectivamente. Por meio de um planejamento de experimentos fatorial 2² com quatro pontos axiais e triplicata no ponto central foi possível encontrar a melhor condição de pré-tratamento do bagaço para a produção de BS em FES. Com a condição escolhida foi possível realizar fermentações de 96 h em reator de coluna segmentada obtendo índices de emulsificação variando de 40 a 63 %. Também foi notado um aumento da viscosidade e escurecimento do meio, relacionados a produção de pululana e melanina, respectivamente. Desta maneira, o bagaço PTA mostra-se uma matéria-prima promissora para a produção de BS por *A. pullulans*.

Palavras-chave: Biossurfactante. Fermentação em estado sólido. Biomassa.

ABSTRACT

CARNEIRO, B. C.; Conversion of sugarcane bagasse in biosurfactant by ***Aureobasidium pullulans* LB83 using solid-state fermentation**. 2019. 97 p. Dissertation (Master of Science) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2019

Surfactants are molecules with amphipathic structures capable of reducing liquids superficial tension or emulsifying substances with different polarities. These compounds are applied in diverse industrial sectors, but when produced from non-renewable feedstocks, their use can result in serious environmental damages. Therefore, biosurfactants (BS), which are natural surfactants, are interesting substitutes for synthetic surfactants, due to its low toxicity and biodegradability. However, BS production costs are not yet economically competitive with synthetic surfactants. Another problem in BS synthesis is foam formation. Yet, this problem can be avoided by the use of solid-state fermentation process (SSF). Beyond that, SSF also allows direct conversion of agroindustry's residues in BS, leading consequently to raw material costs reduction. Thus, SSF solves two bottlenecks of BS production. Some BS producers' microorganisms are not able to degrade lignin, which hinder their access to cellulose and hemicellulose fibers. Nonetheless, biomass alkaline pretreatment can facilitate the process, since it causes the reduction of lignin amount and fibers swelling; this way, biomass degradation by microorganisms is eased. Thereby, at the present work, the microorganism *Aureobasidium pullulans* was chosen as fermentative agent, since it is not a pathogen as the bacteria commonly used for BS production. Raw and alkaline pretreated (APT) sugarcane bagasse were used as solid matrix and carbon source. Bagasse alkaline pretreatment resulted in up to 80 % lignin removal. In SSF, it was possible to reach emulsification indexes for the produced BS higher than 50 % after 96 h and 720 h for APT and raw bagasse, respectively. By means of a factorial design of experiments 2^2 with four axial points and triplicate in the center point it was possible to find the best pretreatment condition for sugarcane bagasse. With the ideal biomass pretreatment condition, it was possible to perform the SSF in a segmented column reactor during 96 h, resulting in emulsification indexes of 60,7%. It was also observed an increase in medium viscosity and darkening of the solid matrix, related to pullulan and melanin production, respectively. Therefore, APT bagasse shows itself as a promising raw material for BS production by *A. pullulans*.

Keywords: Biosurfactant, Solid-state fermentation, Biomass.

1 INTRODUÇÃO

Tensoativos ou surfactantes são moléculas com estruturas anfipáticas e capazes de reduzir a tensão superficial de líquidos e emulsionar misturas de substâncias com diferentes polaridades. Estes compostos são amplamente aplicados em vários setores industriais, desde o petroquímico até o de alimentos. Sendo assim, sem os surfactantes não seria possível executar diversas ações do cotidiano, como escovar os dentes, limpar nossas casas, tomar sorvete e fazer uso de alguns medicamentos (SOBERÓN-CHÁVEZ, 2011; SANTOS *et al.*, 2016).

Grande parte dos tensoativos é proveniente de derivados de petróleo, chamados também de surfactantes sintéticos. Por não serem obtidos a partir de fontes renováveis, muitas vezes são tóxicos ao meio ambiente e não-biodegradáveis. Diversos problemas podem ser causados por estes surfactantes, como o processo de eutrofização e grande formação de espuma na superfície dos rios e lagos, que dificultam a entrada de raios solares, prejudicando a vida aquática (COLLA; COSTA, 2003; NITSCHKE; PASTORE, 2003; KOSARIC; VARDAR-SUKAN, 2015).

Recentemente ocorre por parte dos consumidores uma grande preocupação com o meio ambiente, que exercem um maior apelo sobre empresas para a manufatura de produtos ambientalmente corretos. Como substitutos aos surfactantes sintéticos surgem os biossurfactantes (BS), os quais são moléculas produzidas por plantas, animais ou microrganismos que possuem características semelhantes aos surfactantes sintéticos. Por serem de origem natural, são em geral biodegradáveis, não tóxicos ao meio ambiente e podem ser provenientes de fontes renováveis. Além disso, muitos BS têm ação antibiótica, inseticida, antitumoral, antifúngica e antiviral. Todavia, sua produção ainda apresenta alguns problemas sérios, como a geração de espuma e a recuperação do produto, que reduzem a competitividade dos BS em relação aos surfactantes tradicionais (MANEERAT, 2005; ARAUJO; FREIRE; NITSCHKE, 2013).

Uma forma de reduzir os custos de produção dos BS é a utilização de subprodutos agroindustriais como matéria-prima, que além de possuírem vantagem econômica, são renováveis. Alguns microrganismos são capazes de degradar diretamente a biomassa lignocelulósica, enquanto outros microrganismos necessitam que a lignina seja removida, por meio de um pré-tratamento alcalino, por exemplo. Além disso, muitas vezes os

subprodutos agroindustriais não recebem um destino correto e acabam tornando-se poluentes. No Brasil, por exemplo, o principal subproduto agroindustrial de origem lignocelulósica, o bagaço de cana-de-açúcar, se acumula em pátios das usinas sucroalcooleiras onde é gerado. Desta forma, o uso de biomassa lignocelulósica como matéria-prima para a produção de BS pode ser uma solução interessante para dois problemas, um destino para o resíduo e a redução nos custos de produção (NIGAM; PANDEY, 2009; FARINAS, 2015).

Atualmente, diversos estudos para a produção de BS ocorrem ao redor do mundo e a maior parte deles foca na utilização de bactérias, principalmente dos gêneros *Pseudomonas* e *Bacillus*. A aplicação de BS produzidos por bactérias, geralmente, é limitada, devido à patogenicidade de alguns destes organismos. O *status* GRAS indica se microrganismos/bioproductos não apresentam riscos de patogenicidade e toxicidade, possibilitando seu uso nas indústrias alimentícias e farmacêuticas. Diversos fungos e leveduras possuem o *status* GRAS (*Generally recognized as safe* – Geralmente Reconhecido como Seguro) e, por isso, seu uso para a produção de BS vem crescendo, como por exemplo o fungo leveduriforme *Aureobasidium pullulans* (FONTES; AMARAL; COELHO, 2008; BRUMANO, 2017a).

A. pullulans é conhecido por ser produtor de pululana, um exopolissacarídeo, e por suas colônias apresentarem coloração negra devido a produção de melanina. Alguns autores reportam que este microrganismo produz moléculas que possuem características surfactantes, chamadas de óleos pesados (*heavy oils*). Além disso, algumas linhagens de *A. pullulans* são capazes de produzir enzimas celulases e xilanases, o que possibilita a degradação da fração de carboidratos de materiais lignocelulósicos. Em vista disto, abre-se o caminho para a utilização de resíduos agroindustriais como substrato para fermentação em estado sólido (FES) por *A. pullulans*. (DESHPANDE; RALE; LYNCH, 1992).

A FES é uma técnica fermentativa muito antiga, muito explorada no Oriente, que simula condições parecidas com o habitat de microrganismos na natureza: uma matriz sólida, que pode ou não ser substrato, envolvida em uma fina camada de água (NIGAM; PANDEY, 2009). Deste modo, não há água livre no sistema. Este fato pode proporcionar as seguintes vantagens: a produção tende a ser mais alta, há menos riscos de contaminação por bactérias e os gastos costumam ser mais baixos. Além disso, a FES resolve um dos problemas mais intrínsecos na produção de BS: a formação de espuma (MITCHELL *et al.*, 2000; PANDEY *et al.*, 2000)

Estudos anteriores mostraram a capacidade deste microrganismo de produzir BS por meio de FES utilizando bagaço de cana-de-açúcar como suporte e sacarose sintética como fonte de carbono (BRUMANO, 2017a). Desta forma, o presente trabalho visa dar continuidade a estes estudos, porém, inovando ao utilizar apenas o bagaço de cana-de-açúcar, mais precisamente as frações celulósica e hemicelulósica, como fonte de carbono.

2 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos permitem concluir que a utilização do bagaço *in natura* como fonte de carbono leva a um tempo muito longo (cerca de 720 h) de fermentação para a produção de BS, não sendo então viável como alternativa para uma biorrefinaria. No entanto, o pré-tratamento alcalino do bagaço de cana-de-açúcar, remove parte da lignina, facilitando a degradação dos polissacarídeos deste substrato pelo microrganismo *Aureobasidium pullulans*. Além disso, observa-se que o extrato bruto gerado a partir da utilização da biomassa PTA como substrato para FES alcança índices de emulsificação maiores que 50 %.

Os modelos matemáticos permitem a relacionar a concentração de NaOH e tempo de pré-tratamento com a remoção de lignina e o índice de emulsificação. Com ajuda dos modelos constata-se que o tempo de pré-tratamento de autoclave não é um fator tão importante quanto a concentração de NaOH. Desta forma, é possível reduzir gastos com NaOH e/ou energia para a autoclave utilizando o modelo para encontrar a melhor relação entre IE e estes dois fatores.

O uso do bagaço PTA com 0,12 g/g de NaOH e 0 min em autoclave possibilita a produção de BS com IE maior que 55% em apenas 96 h de fermentação, um tempo relativamente curto, tornando sua aplicação mais viável em relação ao bagaço *in natura* em biorrefinarias.

Foi possível a produção de BS em um reator de coluna segmentada, no qual não foi observada a compactação no leito, no entanto ocorreu uma alta variabilidade dentre os IE extraídos em cada módulo.

Na fermentação em reator de coluna segmentada, com o atual modelo não é possível concluir se há influência ou não da aeração, no entanto aparentemente um maior número de módulos dificulta a produção de BS em cada módulo.

A maior parte das moléculas que compõem este BS são exofilinas, principalmente do tipo B2.

Por fim, foi notada a influência de luz no metabolismo deste microrganismo, tornando muito importante um estudo do efeito de diferentes comprimentos de onda de luz na produção de BS por *A. pullulans*.

REFERÊNCIAS

- ANTUNES, F. A. F. **Imobilização celular de *Scheffersomyces shehatae* UFMG-HM 52.2 em gel de alginato de cálcio visando a produção de etanol a partir de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar em reator de leito fluidizado.** 2015. Tese (Doutorado em Biotecnologia Industrial) – Departamento de Bioquímica, Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2015.
- ANTUNES, F. A. F.; CHANDEL, A. K.; INGLE, A. P.; MILESSI, T. S. S.; DUSSAN, K. J. M.; SILVA, D. D. V.; TERAN-HILARES, R.; BRUMANO, L. P.; SILVA, G. M.; HERNANDEZ-PEREZ, A.; RAMOS, L.; CARNEIRO, B. C.; MAITAN, M. V.; FELIPE, M. G. A.; SANTOS, J. C.; DA SILVA, S. S. **Sugarcane Bagasse: Properties, Production And Uses.** Hauppauge: Nova Science Publishers, 2018 (*in press*)
- ARAUJO, L. V.; FREIRE, D. M. G.; NITSCHKE, M. Biosurfactants : anticorrosive, antibiofilm and antimicrobial properties. **Química Nova**, v. 36, n. 6, p. 848–858, Abr., 2013.
- ARCURI, S. L.; PAGNOCCA, F. C.; DA PAIXÃO MELO, W. G.; NAGAMOTO, N. S.; KOMURA, D. L.; RODRIGUES, A. Yeasts found on an ephemeral reproductive caste of the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa*. Antonie van Leeuwenhoek, **International Journal of General and Molecular Microbiology**, v. 106, n. 3, p. 475–487, 2014.
- ASHOK, A.; DORIYA, K.; RAO, D. R. M.; KUMAR, D. S. Design of solid state bioreactor for industrial applications: An overview to conventional bioreactors. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 9, p. 11–18, 2017.
- ATTWOOD, D.; FLORENCE, A. T.; **Surfactants Systems: Their Chemistry, Pharmacy and Biology**, London: Chapman and Hall, 1983
- BARROS, F. F. **A melhoria contínua no processo de plantio da cana-de-açúcar.** 2008. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.
- BARROS, F. F. C.; QUADROS, C. P. De; PASTORE, G. M. Propriedades emulsificantes e estabilidade do biossurfactante produzido por *Bacillus subtilis em manipueira*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 4, p. 979–985, 2008.
- BISCHOFF, K.M.; LEATHERS, T.D.; PRICE, N.P.J.; MANITCHOTPISIT, P. Liamocin oil from *Aureobasidium pullulans* has antibacterial activity with specificity for species of *Streptococcus*. **The Journal of Antibiotics**, v. 68, p. 642–645, 2015.
- BRUMANO, L. P. **Produção de biossurfactante por levedura utilizando fermentação em estado sólido em bagaço de cana-de-açúcar.** 2017. Tese (Doutorado em Ciências) – Departamento de Bioquímica, Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2017a.
- BRUMANO, L. P.; ANTUNES, F. A. F.; SOUTO, S. G.; DOS SANTOS, J. C.; VENUS, J.; SCHNEIDER, R.; DA SILVA, S. S. Biosurfactant production by *Aureobasidium pullulans* in stirred tank bioreactor: New approach to understand the influence of important variables in the process. **Bioresource Technology**, v. 243, p. 264–272, 2017b.

CAMPOS, J. M.; MONTENEGRO STAMFORD, T. L.; SARUBBO, L. A.; DE LUNA, J. M.; RUFINO, R. D.; BANAT, I. M. Microbial biosurfactants as additives for food industries. **Biotechnology Progress**, v. 29, n. 5, p. 1097–1108, 2013.

CANILHA, L.; CARVALGO, W.; FELIPE, MGA; SILVA, JBA; GIULIETTI, M. Ethanol production from sugarcane bagasse hydrolysate using *Pichia stipitis*. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 161, p. 84-92, 2010.

CANILHA, L.; SANTOS, V. T. O.; ROCHA, G. J. M.; ALMEIDA E SILVA, J. B.; GIULIETTI, M.; SILVA, S. S.; FELIPE, M. G. A.; FERRAZ, A.; MILAGRES, A. M. F.; CARVALHO, W. A study on the pretreatment of a sugarcane bagasse sample with dilute sulfuric acid. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 38, n. 9, p. 1467–1475, 2011.

CANILHA, L.; CHANDEL, A. K.; SUZANE DOS SANTOS MILESSI, T.; ANTUNES, F. A. F.; LUIZ DA COSTA FREITAS, W.; DAS GRAÇAS ALMEIDA FELIPE, M.; DA SILVA, S. S. Bioconversion of sugarcane biomass into ethanol: An overview about composition, pretreatment methods, detoxification of hydrolysates, enzymatic saccharification, and ethanol fermentation. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v. 2012.

CHAYABUTRA, C.; WU, J.; JU, L. K. Rhamnolipid production by *Pseudomonas aeruginosa* under denitrification: Effects of limiting nutrients and carbon substrates. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 72, n. 1, p. 25–33, 2001.

CHI, Z.; WANG, F.; CHI, Z.; YUE, L.; LIU, G.; ZHANG, T. Bioproducts from *Aureobasidium pullulans*, a biotechnologically important yeast. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 82, n. 5, p. 793–804, 2009.

COLLA, L. M.; COSTA, J. A. V. Obtenção e aplicação de biossurfactantes. **Vetor**, v. 13, p. 85–103, 2003.

CONAB Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira Cana-de-açúcar v. 5- Safra 2018/19, N. 2 - Segundo levantamento**. Brasília, p. 1-86, Agosto 2018.

DA CUNHA, D. C.; SOUZA, J. A.; ROCHA, L. A. O.; COSTA, J. A. V., Hexahedral modular bioreactor for solid state bioprocesses, **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 25, p. 2173-2178, 2009.

DALTIN, D. **Tensoativos: química, propriedades e aplicações**. São Paulo: Edgard Blücher Ltda, 2011.

DE, S.; MALIK, S.; GHOSH, A.; SAHA, R.; SAHA, B. A review on natural surfactants. **RSC Advances**, v. 5, n. 81, p. 65757–65767, 2015.

DESAI, J. D.; BANAT, I. M. Microbial production of surfactants and their commercial potential. **Fuel and Energy Abstracts**, v. 61, n. 1, p. 47–64, 1997.

DESHPANDE, M. S.; RALE, V. B.; LYNCH, J. M. *Aureobasidium pullulans* in applied microbiology: A status report. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 14, n. 7, p. 514–527, 1992.

DOBBERSTEIN, J.; EMEIS, C.C. β -Xylanase produced by *Aureobasidium pullulans* CBS 58475. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 32, n. 3, p. 262–268, 1989.

DURAND, A. Bioreactor designs for solid state fermentation. **Biochemical Engineering Journal**, v. 13, n. 2–3, p. 113–125, 2003.

EL- HOUSSEINY, G.S.; ABOSHANAB, K.M.; ABOULWAFI, M.M.; HASSOUNA, N.A. Rhamnolipid production by a gamma ray-induced *Pseudomonas aeruginosa* mutant under solid state fermentation. **AMB Express**, v. 9, 2019.

ERNESTO, V. A. R. T. **Caracterização Térmica do Bagaço da Cana-de-Açúcar Visando Aproveitamento Energético**. 2009. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2009.

FARINAS, C. S. Developments in solid-state fermentation for the production of biomass-degrading enzymes for the bioenergy sector. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 52, p. 179–188, 2015.

FASANELLA, C. C. **Ação das enzimas ligninolíticas produzidas por *Aspergillus niger* e *Penicillium* sp. em bagaço de cana-de-açúcar tratado quimicamente**. 2008. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

FDA U.S. Food and Drug Administration. **GRAS Notices GRN No. 309**. Disponível em: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/fdcc/index.cfm?set=GRASNotices&id=309> Acesso em 20 set. 2018.

FELIPE, L. D. O.; DIAS, S. D. C. Surfactantes sintéticos e biossurfactantes : vantagens e desvantagens. **Química Nova na Escola**, v. 39, n. 3, p. 228–236, 2017.

FONTES, G. C.; AMARAL, P. F. F.; COELHO, M. A. Z. Produção de biossurfactante por levedura. **Química Nova**, v. 31, n. 8, p. 2091–2099, 2008.

GALBE, M.; ZACCHI, G. Pretreatment of lignocellulosic materials for efficient bioethanol production. **Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology**, v. 108, p. 41–65, 2007.

GLOBAL MARKETS INSIGHTS. **Biosurfactants Market Size By Product (Sphorolipids, Rhamnolipids, Alkyl Polyglucosides [APG], Methyl Ethyl Sulfonates [MES], Sucrose Esters, Sorbitan Esters, Lipopeptides), By Application (Household Detergents, Personal Care, Industrial Cleaners, Food Processing, Oilfield Chemicals, Agricultural Chemicals, Textiles), Industry Analysis Report, Regional Outlook (U.S., Germany, UK, France, Italy, China, India, Japan, Thailand, Brazil), Application Potential, Price Trend, Competitive Market Share & Forecast, 2018 – 2024**. 2018. Disponível em: <https://www.gminsights.com/industry-analysis/biosurfactants-market-report> Acesso em: 11 abr. 2019.

GOSTINČAR, C.; OHM, R. A.; KOGEJ, T.; SONJAK, S.; TURK, M.; ZAJC, J.; ZALAR, P.; GRUBE, M.; SUN, H.; HAN, J.; SHARMA, A.; CHINIQUEY, J.; NGAN, C.; LIPZEN, A.; BARRY, K.; GRIGORIEV, I. V.; GUNDE-CIMERMAN, N. Genome sequencing of four *Aureobasidium pullulans* varieties: biotechnological potential, stress tolerance, and description of new species. **BMC Genomics**, v. 15, n. 549, 2014.

GOUVEIA, E. R.; NASCIMENTO, R. T. do; SOUTO-MAIOR, A. M.; ROCHA, G. J. de M. Validação de metodologia para a caracterização química de bagaço de cana-de-açúcar. **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1500–1503, 2009.

GRAND VIEW RESEARCH. **Surfactants Market Analysis By Product (Cationic, Nonionic, Anionic, Amphoteric), By Application (Home Care, Personal Care, Industrial & Institutional Cleaners, Food Processing, Oilfield Chemicals, Agricultural Chemicals, Textiles, Emulsion Polymerization, Paints & Coatings, Construction) And Segment Forecasts To 2022**. 2014. Disponível em: <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/surfactants-market> Acesso em: 11 abr. 2019.

GUTIERREZ-MACIAS, P.; LOURDES, M. De; JESUS, H. De; BARRAGAN-HUERTA, B. E. Agro-Industrial Waste. **Fresenius Environmental Bulletin**, v. 26, n. 6, p. 4128–4152, 2017.

GUTIERREZ, T.; SHIMMIELD, T.; HAIDON, C.; BLACK, K.; GREEN, D. H. Emulsifying and Metal Ion Binding Activity of a Glycoprotein Exopolymer Produced by *Pseudoalteromonas* sp. Strain TG12. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 74, n. 15, p. 4867–4876, 2008.

HANKIN, L.; ANAGNOSTAKIS, S.L. Solid media containing carboxymethylcellulose to detect CX cellulose activity of micro-organisms. **Journal of General Microbiology**, v. 98, n. 1, p. 109–115, 1977.

HAMES, B.R.; THOMAS, S.R.; SLUITER, A.D.; ROTH, C.J.; TEMPLETON, D.W. Rapid biomass analysis. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 105/108, p. 5-16, 2003.

HÖLKER, U.; HÖFER, M.; LENZ, J. Biotechnological advantages of laboratory-scale solid-state fermentation with fungi. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 64, n. 2, p. 175–186, 2004.

IBRAHIM, M. M.; EL-ZAWAWY, W. K.; ABDEL-FATTAH, Y. R.; SOLIMAN, N. A.; AGBLEVOR, F. A. Comparison of alkaline pulping with steam explosion for glucose production from rice straw. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, n. 2, p. 720–726, 2011.

JANU, K. U.; SINDHU, R.; BINOD, P.; KUTTIRAJA, M.; SUKUMARAN, R. K.; PANDEY, A. Studies on physicochemical changes during alkali pretreatment and optimization of hydrolysis conditions to improve sugar yield from bagasse. **Journal of Scientific and Industrial Research**, v. 70, n. 11, p. 952–958, 2011.

JIMÉNEZ-PEÑALVER, P.; CASTILLEJOS, M.; KOH, A.; GROSS, R.; SÁNCHEZ, A.; FONT, X.; GEA, T. Production and characterization of sophorolipids from stearic acid by solid-state fermentation, a cleaner alternative to chemical surfactants. **Journal of Cleaner Production**, v. 172, p. 2735–2747, 2018.

KASANA, R. C.; SALWAN, R.; DHAR, H.; DUTT, S.; GULATI, A. A rapid and easy method for the detection of microbial cellulases on agar plates using Gram's iodine. **Current Microbiology**, v. 57, p. 503-507, 2008.

KIM, J. S.; LEE, I. K.; YUN, B. S. A novel biosurfactant produced by *Aureobasidium pullulans* L3-GPY from a tiger lily wild flower, *Lilium lancifolium* thunb. **PLoS ONE**, v. 10, n. 4, p. 1–12, 2015.

KITAMOTO, D.; AKIBA, S.; HIOKI, C.; TABUCHI, T. Extracellular accumulation of mannosylerythritol lipids by a strain of *Candida antarctica*. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 54, n. 1, p. 31–36, 1990.

KOH, A.; LINHARDT, R. J.; GROSS, R. Effect of Sophorolipid n-Alkyl Ester Chain Length on Its Interfacial Properties at the Almond Oil-Water Interface. **Journal of cleaner production**, v. 32, n. 22, p. 5562–5572, 2016.

KOSARIC, N.; VARDAR-SUKAN, F (ed.). Biosurfactants : **Production and Utilization-Processes, Technologies, and Economics**. Boca Raton: CRC Press, 2015.

KRISHNA, C. Solid-state fermentation systems - An overview. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 25, p. 1–30, 2005.

KUDANGA, T.; MWENJE, E. Extracellular cellulase production by tropical isolates of *Aureobasidium pullulans*. **Canadian journal of microbiology**, v. 51, p. 773–776, 2005.

KULAKOVSKAYA, E.; KULAKOVSKAYA, T. **Extracellular Glycolipids of Yeasts: Biodiversity, Biochemistry, and Prospects**. Waltham: Elsevier, 2014.

KUROSAWA, T.; SAKAI, K.; NAKAHARA, T.; OSHIMA, Y.; TABUCH, T. Extracellular Accumulation of the Polyol Lipids, 3,5-Dihydroxydecanoyl and 5-Hydroxy-2-decenoyl Esters of Arabitol and Mannitol, by *Aureobasidium* sp. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v. 58, n. 11, p. 2057–2060, 1994.

LEATHERS, T.D. Color Variants of *Aureobasidium pullulans* Overproduce Xylanase with Extremely High Specific Activity. **Applied Environmental Microbioloy**, v. 52, n. 5, p. 1026–1030, 1986.

LORENCINI, P. **Otimização de pré-tratamento ácido de bagaço de cana-de-açúcar para a sua utilização como substrato na a produção biológica de hidrogênio**. 2013. Dissertação (Mestrado em Química) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2013.

MAGALHÃES, L. **Eutrofização**. Disponível em: <https://www.todamateria.com.br/eutrofizacao/> Acesso em: 15 out. 2018.

MAKKAR, R. S.; CAMEOTRA, S. S. Biosurfactant production by microorganisms on unconventional carbon sources. **Journal of Surfactants and Detergents**, v. 2, n. 2, p. 237–241, 1999.

MANEERAT, S. Production of biosurfactants using substrates from renewable-resources. **Songklanakarin Journal of Science and Technology**, v. 27, n. 3, p. 675–683, 2005.

MANITCHOTPISIT, P.; PRICE, N. P. J.; LEATHERS, T. D.; PUNNAPAYAK, H. Heavy oils produced by *Aureobasidium pullulans*. **Biotechnology Letters**, v. 33, n. 6, p. 1151–1157, 2011.

MARABEZI, K. **Estudo sistemático das reações envolvidas na determinação de lignina e holocelulose em amostras de bagaço e palha de cana-de-açúcar**. 2009. Dissertação (Mestrado em Ciências Físico-Química) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009.

MARCELINO, P. R. F. **Produção de biossurfactantes de segunda geração por leveduras em hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar**. 2016. Tese (Doutorado em Ciências) – Departamento de Bioquímica, Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2016.

MARCELINO, P. R. F.; DA SILVA, V. L.; RODRIGUES PHILIPPINI, R.; VON ZUBEN, C. J.; CONTIERO, J.; DOS SANTOS, J. C.; DA SILVA, S. S. Biosurfactants produced by *Scheffersomyces stipitis* cultured in sugarcane bagasse hydrolysate as new green larvicides for the control of *Aedes aegypti*, a vector of neglected tropical diseases. **PLoS ONE**, 2017.

MARCHANT, R.; BANAT, I. M. Microbial biosurfactants: Challenges and opportunities for future exploitation. **Trends in Biotechnology**, v. 30, n. 11, p. 558–565, 2012.

MARKETS AND MARKETS. **Surfactants Market by Type (Anionic, Non-Ionic, Cationic, and Amphoteric), Substrate (Synthetic, and Bio-based), Application (Detergents, Personal Care, Textile, Elastomers & Plastics, Crop Protection, Food & Beverage) - Global Forecast to 2021.** 2016. Disponível em: <https://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/biosurfactants-market-493.html> Acesso em: 8 mar. 2018.

MEDINA, K. J. D. D. **Produção de bioetanol a partir de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar empregando as leveduras *Scheffersomyces (Pichia) stipitis* NRRL Y-7124 e *Candida shehatae* UFMG HM 52.2 visando à aplicação em bioprocessos com campo eletromagnético.** 2013. Tese (Doutorado em Ciências) – Departamento de Bioquímica, Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2013.

MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. DE (ed.). **Microbiologia Ambiental.** 2.ed. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2008.

MITCHELL, D. A.; KRIEGER, N.; STUART, D. M.; PANDEY, A. New developments in solid-state fermentation II. Rational approaches to the design, operation and scale-up of bioreactors. **Process Biochemistry**, v. 35, n. 10, p. 1211–1225, 2000.

MOLDAVSKY, N.; COHEN, S. Determinants of liposome partitioning in aqueous two phase systems: evaluation by means of a factorial design. **Biotechnology and Bioengineering**, v.52, p.529-537, 1996.

MORAN, S.; RAI, D.K.; CLARK, B.R.; MURPHY, C.D. Precursor-directed biosynthesis of fluorinated iturin A in *Bacillus* spp. **Organic and Biomolecular Chemistry**, v. 7, p. 644–646, 2008.

MORITA, T.; KONISHI, M.; FUKUOKA, T.; IMURA, T.; KITAMOTO, D. Discovery of *Pseudozyma rugulosa* NBRC 10877 as a novel producer of the glycolipid biosurfactants, mannosylerythritol lipids, based on rDNA sequence. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 73, n. 305, p. 305-313, 2006.

MUSO-CACHUMBA, J. J. **Produção de L-asparaginase extracelular por fermentação em estado sólido.** 2017. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Departamento de Bioquímica, Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2017.

NAGATA, N.; NAKAHARA, T.; TABUCHI, T. Fermentative Production of Poly(β -L-malic acid), a Polyelectrolytic Biopolyester, by *Aureobasidium* sp. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 57, n. 4, p. 638–642, 1993.

NELSON, DL; COX, MM. **Princípios de Bioquímica de Lehninger.** 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2014.

NIGAM, P. S.; PANDEY, A. (ed.). **Biotechnology for Agro-Industrial Residues Utilisation.** [s.l.] Springer, 2009.

NITSCHKE, M.; PASTORE, G. M. Biossurfactantes: Propriedades e aplicações. **Química Nova**, v. 25, n. 5, p. 772–776, 2002.

NITSCHKE, M.; PASTORE, G. M. Biosurfatantes a partir de resíduos agroindustriais. **Biociência & Desenvolvimento**, v. 31, p. 63–67, 2003.

OGEDA, T.L.; PETRI, D.F.S. Hidrólise enzimática de biomassa. **Química Nova**, v. 33, n. 7, p.1549-1558, 2010.

- PANDEY, A. Solid-state fermentation. **Biochemical Engineering Journal**, v. 13, p. 81–84, 2003.
- PANDEY, A.; NEGI, S.; BINOD, P.; LARROCHE, C. (ed.). **Pretreatment of biomass processes and technologies**. Amsterdam: Elsevier, 2015.
- PANDEY, A.; SOCCOL, C. R.; NIGAM, P.; SOCCOL, V. T. Biotechnological potential of agro-industrial residues. I: sugarcane bagasse. **Bioresource Technology**, v. 74, p. 69–80, 2000.
- PEREZ, C. L.; CASCIATORI, F. P.; THOMÉO, J. C. Strategies for scaling-up packed-bed bioreactors for solid-state fermentation: The case of cellulolytic enzymes production by a thermophilic fungus. **Chemical Engineering Journal**, v. 361, p. 1142–1151, 2019.
- PINTO, G. A. S.; ANDRADE, A. M. R.; FRAGA, S. L. P.; TEIXEIRA, R. B. **Solid state fermentation: An alternative to reuse and valorization of tropical agroindustrial residues**. Embrapa Comunicado Técnico, v. 102, p. 1–5, 2005.
- PITARELO, A.P. **Avaliação da susceptibilidade do bagaço e da palha de cana-de-açúcar à bioconversão via pré-tratamento a vapor e hidrólise enzimática**. 2007. Dissertação (Mestrado em Química) - Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.
- POU-LLINAS, J.; DRIGUEZ H. D-Xylose as inducer of the xylan-degrading enzyme system in the yeast *Pullularia pullulans*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 27, n. 2, p. 134–138, 1987.
- PRICE, N.P.J.; MANITCHOTPISIT, P.; VERMILLION, K.E.; BOWMAN, M.J.; LEATHERS, T.D. Structural characterization of novel extracellular liamocins (mannitol oils) produced by *Aureobasidium pullulans* strain NRRL 50380. **Carbohydrate Research**, v. 370, p. 24–32, 2013.
- RABELO, S.C.; CARRERE, H.; MACIEL FILHO, R.; COSTA, A.C. Production of bioethanol, methane and heat from sugarcane bagasse in a biorefinery concept. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 7887–7895, 2011.
- REDDY, A. S.; CHEN, C. Y.; BAKER, S. C.; CHEN, C. C.; JEAN, J. S.; FAN, C. W.; CHEN, H. R.; WANG, J. C. Synthesis of silver nanoparticles using surfactin: A biosurfactant as stabilizing agent. **Materials Letters**, v. 63, n. 15, p. 1227–1230, 2009.
- ROBBEL, L.; MARAHIEL, M. A. Daptomycin, a bacterial lipopeptide synthesized by a nonribosomal machinery. **Journal of Biological Chemistry**, v. 285, n. 36, p. 27501–27508, 2010.
- RODRÍGUEZ COUTO, S.; SANROMÁN, M. A. Application of solid-state fermentation to ligninolytic enzyme production. **Biochemical Engineering Journal**, v. 22, n. 3, p. 211–219, 2005.
- SAHA, B. C. Hemicellulose bioconversion. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 30, n. 5, p. 279–291, 2003.
- 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**, v. 17, n. 3, p. 1–31, 2016.
- 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**, v. 31, n. 8, p. 707–723, 2015.

SAUR, K.M.; BRUMHARD, O.; SCHOLZ, K.; HAYEN, H.; TISO, T. A pH shift induces high-titer liamocin production in *Aureobasidium pullulans*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 103, p. 4741–4752, 2019.

SINGH, P.; PATIL, Y.; RALE, V. Biosurfactant Production: Emerging Trends and Promising Strategies. **Journal of Applied Microbiology**, 2018. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1111/jam.14057> Acesso em: 15 mar. 2019.

SLUITER, A.; HAMES, B.; RUIZ, R.; SCARLATA, C.; SLUITER, J.; TEMPLETON, D.; CROCKER, D. **Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass**. Technical report NREL/TP-510-42618 prepared for National Renewable Energy Laboratory, Golden Co., 2011.

SOBERÓN-CHÁVEZ, G. (ed.). **Biosurfactants From Genes to Applications**. Münster: Springer Verlag Berlin Heidelberg, 2011.

SOCOL, C. R.; COSTA, E. S. F. da; LETTI, L. A. J.; KARP, S. G.; WOICIECHOWSKI, A. L.; VANDENBERGHE, L. P. de S. Recent developments and innovations in solid state fermentation. **Biotechnology Research and Innovation**, 2017.

SOUZA, A. P. D. E. **A cana-de-açúcar e as mudanças climáticas: efeitos de uma atmosfera enriquecida em CO₂ sobre o crescimento, desenvolvimento e metabolismo de carboidratos de *Saccharum sp.*** 2007. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Estrutural) Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

TERÁN-HILARES, R. **Hydrodynamic cavitation as a new approach for sugarcane bagasse pretreatment aiming to second generation ethanol production**. 2017. Tese (Doutorado em Ciências) – Departamento de Bioquímica, Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2017.

TERÁN-HILARES, R.; RESÉNDIZ, A. L.; MARTÍNEZ, R. T.; SILVA, S. S.; SANTOS, J. C. Successive pretreatment and enzymatic saccharification of sugarcane bagasse in a packed bed flow-through column reactor aiming to support biorefineries. **Bioresource Technology**, v. 203, p. 42–49, 2016.

TERÁN-HILARES, R.; ORSI, C. A.; AHMED, M.A.; MARCELINO, P.F.; MENEGATTI, C.R.; DA SILVA, S.S.; DOS SANTOS, J.C. Low-melanin containing pullulan production from sugarcane bagasse hydrolysate by *Aureobasidium pullulans* in fermentations assisted by light-emitting diode. **Bioresource Technology**, v.230, p. 76-81, 2017.

TOMAZELA, J.M. **Espumas cobrem Tietê e chegam a casas em Pirapora do Bom Jesus**. 2015. Disponível em: <https://sustentabilidade.estadao.com.br/noticias/geral,espumas-cobrem-o-tiete-e-chegam-as-casas-em-pirapora-do-bom-jesus,1711815> Acesso em: 20 set. 2018.

YAZID, N. A.; BARRENA, R.; KOMILIS, D.; SÁNCHEZ, A. Solid-state fermentation as a novel paradigm for organic waste valorization: A review. **Sustainability**, v. 9, n. 2, p. 1–28, 2017.

ZALAR, P.; GOSTINČAR, C.; DE HOOG, G. S.; URŠIČ, V.; SUDHADHAM, M.; GUNDE-CIMERMAN, N. Redefinition of *Aureobasidium pullulans* and its varieties. **Studies in Mycology**, v. 61, p. 21–38, 2008.