BIOSABÃO COM MICRORGANISMOS EFICIENTES PARA DIMINUIR O IMPACTO NOS CORPOS HÍDRICOS.

Danniela Da Cal Scott [(1)]

Doutorando em Dinâmica dos Oceanos e da Terra pela Universidade Federal Fluminense, Pós Graduando em Engenharia de Saneamento Básica (INBEC), Pós Graduando Engenharia de Segurança do Trabalho (Candido Mendes); Graduado em Engenharia Ambiental (UNIFTC).

Carolina Waite [(2)]

Pós doutorado em Dinâmica dos Oceanos e da Terra pela Universidade Federal Fluminense, Doutora e Mestre em Biologia Marinha e Ambientes Costeiros, Bióloga Marinha.

André Pedral S. de Sena [(3)]

Doutor em Engenharia de Produção pela Universidade Federal de Santa Catarina (2008); Mestre em Engenharia de Produção pela Universidade Federal de Santa Catarina (2002); especialista em Informática para Educação pelo Centro Educacional de Pós-Graduação Olga Metting (1999). Eng. Eletricista pela Universidade Federal da Bahia (1986).

José Antonio Baptista Neto [(4)]

Graduação em Geografia pela Universidade Federal Fluminense (1990), Especialização e mestrado em Geologia e Geofísica Marinha pela Universidade Federal Fluminense (1993) e doutorado em Geociências - Queen's University, Belfast (1996) / Reino Unido.

Eduardo Camilo da Silva [(5)]

Doutor em Administração pelo Instituto COPPEAD da UFRJ e Professor Adjunto da Universidade Federal Fluminense, onde vem pesquisando nas áreas de Microestrutura de Mercado e Finanças Comportamentais. Graduado em Engenharia Eletrônica pelo Instituto Militar de Engenharia (1987).

Endereço [(1)]**:** Av. General Milton Tavares de Souza, s/n, 4 Andar, Campus da Praia Vermelha, Niterói, RJ, Brasil, CEP:24210-346- **Tel:** +55 (21) 99955-5728 - **e-mail:** dscott@id.uff.br.

RESUMO

O desenvolvimento de saneantes mais sustentáveis é crucial para reduzir o impacto ambiental dos efluentes domésticos. Biosabão enriquecido com Microrganismos Eficazes (ME) apresenta-se como uma alternativa ecológica aos detergentes sintéticos. Comparativamente, ingredientes naturais como óleos e gorduras vegetais demonstram maior biodegradabilidade. Neste estudo observou-se que as formulações iniciais do Biosabão alcançaram eficácia significativa nos parâmetros de condicionamento, limpeza, formação de bolhas, persistência, dureza, solubilidade e secagem. Porém, a viabilidade dos microrganismos nas formulações iniciais mostrou-se baixa, o que levou ao desenvolvimento de uma técnica de microencapsulação para proteger os microrganismos durante o processo de saponificação. Essa técnica, validada por estudos anteriores, mostrou-se eficaz na preservação de células viáveis, facilitando a incorporação e ação do ME, o que resultou em melhorias nos processos de degradação da matéria orgânica em condições simuladas de efluentes sanitários. Este estudo destaca o potencial do Biosabão com microencapsulado como uma solução viável e eficiente, incentivando práticas mais sustentáveis na gestão de resíduos e tratamento de efluentes.

PALAVRAS-CHAVE: Biosabão; Detergentes ecológicos; Microrganismos Efetivos (ME).

INTRODUÇÃO

A história do sabão, segundo alguns historiadores, acredita-se que a descoberta dos primeiros Biosabões foi acidental e o nome é atribuído a uma lenda romana, por volta de 1.000 a.C. nas proximidades do Morro do Sapo, num pequeno afluente do Rio Tibre, abaixo de um local religioso onde aconteciam os sacrifícios de animais, as lavadeiras notaram que suas roupas ficavam mais limpas ao entrarem em contato com a argila com sabão que escorria colina abaixo e caía na água. O agente de limpeza era formado por gordura animal que se misturava à cinza de madeira e penetrava no solo argiloso.

Acredita-se que o sabão, próximo ao atual, tenha se originado com os fenícios em 600 a.C. A banha de cabra era fervida em água com cinza de madeira, obtendo-se um sabão cremoso (DANTAS. et al. 2017).

O mais interessante é que a palavra "sabão" é semelhante em vários idiomas: Sapone (italiano), Savon (francês), Seife (alemão), Saippua (finlandês), Szappan (húngaro).

Com a Primeira Guerra Mundial houve escassez de alimentos e consequentemente falta de óleos e gorduras animais para fabricação de sabão e a solução foi utilizar aditivos químicos como surfactantes (FELIPE et al. 2017).

Com a mudança de hábitos voltada para a cultura do banho, dos tratamentos de pele e o baixo custo que a indústria química trouxe para a fabricação de Biosabões, isso levou ao aumento do consumo de agentes de limpeza em todo o mundo. E com o aumento do consumo, veio o impacto ambiental dos aditivos químicos e surfactantes nos corpos hídricos, uma vez que, a maioria dos produtos químicos não são biodegradáveis (HASAN, 2006).

Os surfactantes podem ser sintetizados quimicamente a partir de derivados de petróleo ou biotecnologicamente utilizando microrganismos e matérias-primas renováveis. Os surfactantes sintéticos são economicamente mais viáveis. Porém, quando comparados aos biossurfactantes, causam maior impacto ambiental. Portanto, os biossurfactantes são uma alternativa promissora e seu consumo aumenta a cada dia (HASAN, 2006).

Os detergentes comerciais são baseados em surfactantes sintéticos produzidos quimicamente e fabricados a partir de diversas matérias-primas, principalmente derivados de petróleo. Por exemplo, sulfonato de alquilbenzeno (ABS), que é um detergente sintético produzido a partir de benzeno e propileno. O potencial poluidor do ABS está relacionado à sua capacidade de formar uma densa camada de espuma branca em corpos hídricos conhecidos como "cisne de detergente", como ocorre no Rio Tietê ao longo das cidades de Santana do Parnaíba, Salto e Pirapora do Bom Jesus no Estado de São Paulo, Brasil (Felipe et al. 2017). A densa camada de espuma é responsável por carregar diferentes tipos de poluentes por longas distâncias, causando diminuição na taxa de fotossíntese e alterando o ecossistema aquático (FELIPE et al. 2017).

A crescente preocupação com o impacto ambiental destes produtos levou ao desenvolvimento da química verde, focada na minimização da pegada ecológica através da utilização de matérias-primas sustentáveis e de processos Eco-Friendly. Nesse contexto, os biossurfactantes, que são metabólitos secundários produzidos por microrganismos como *Bacillus spp*., têm surgido como alternativas promissoras devido à sua superior biodegradabilidade e menor toxicidade (Felipe et al., 2017). Além disso, os biossurfactantes possuem propriedades únicas que incluem a capacidade de emulsionar lipídios e atuar como agentes antibióticos, oferecendo vantagens tanto em aplicações industriais quanto ambientais (Martins et al., 2019).

O presente estudo tem como objetivo explorar uma inovação na produção de Biosabão com adição de Microrganismos Eficazes (EM), que utiliza técnicas de microencapsulação para integrar e preservar esses organismos durante o processo de saponificação. Essa abordagem não só melhora a eficácia do Biosabão em termos de limpeza e condicionamento, mas também aumenta a biodegradação de compostos orgânicos em efluentes, alinhando-se a requisitos regulatórios como a Lei Brasileira nº 7.365 de 1985, que exige a inclusão de componentes biodegradáveis em produtos de limpeza (Anvisa, 1999). Este trabalho também está alinhado com as diretrizes globais de sustentabilidade, enfatizando a necessidade de reduzir a dependência de produtos químicos sintéticos prejudiciais ao meio ambiente.

Para reduzir o impacto dos efluentes sanitários nos corpos hídricos, iniciaram-se estudos com microrganismos eficazes na degradação da matéria orgânica. Os consórcios contêm microrganismos que realizarão decomposição fermentativa útil e microrganismos com capacidade fisiológica para fixar nitrogênio atmosférico em aminoácidos e/ou dióxido de carbono em moléculas orgânicas simples através da fotossíntese.

Nos processos de fermentação conhecidos, o Bioinsumo acelera a quebra de compostos como Proteínas, Açúcares, Gorduras, Minerais e Fibras, promovendo a rápida decomposição da matéria orgânica. Além disso, o Bioinsumo ainda funciona de duas formas principais:

a) Pela exclusão competitiva de outros microrganismos indesejáveis que causam maus odores e ineficiência ambiental (ex. Microrganismos metanogênicos, *E. coli* etc.).

b) Produzindo substâncias bioativas benéficas que promovem a saúde ambiental, tais como: enzimas, ácidos orgânicos, aminoácidos e antioxidantes.

O gênero *Bacillus spp.* que é descrito e analisado em seus principais mecanismos de ação, como excreção de antibióticos, toxinas, sideróforos, enzimas líticas e indução de resistência sistêmica; focando na sua capacidade de ser utilizado como agente de controle biológico de pragas e doenças em plantas; bem como sua utilização na formulação de biopesticidas, que foram incorporados a programas de agroecologia; também utilizado no tratamento de efluentes e em acidentes ambientais.

É uma espécie de bactéria gram-positiva saprófita comum do solo e da água, abaixo estão alguns estudados para esta pesquisa:

- ***Bacillus subtilis***– Barros (2007), afirma que *B. subtilis* produz um composto biologicamente ativo chamado surfactina, devido à sua grande atividade superficial é utilizado em tratamentos de resíduos de petróleo, além de ser de extrema importância no processo de tratamento de efluentes industriais.
- ***Bacillus megaterium*** – Gomes (2003), afirma que *B. megaterium* possui capacidade de produzir biossurfactantes e expressão enzimática para degradação de compostos alifáticos e aromáticos; mostraram-se promissores para uso como inóculo em processos de biorremediação de áreas contaminadas com resíduos petroquímicos, pois podem utilizar lama oleosa como única fonte de carbono e produzir biossurfactantes.
- ***Bacillus licheniformis*** – No estudo de Sanches (2012), foi demonstrado que *B. licheniformis* tinha capacidade de degradação de 24% da concentração total do pesticida organoclorado Aldrin. Outros fatores, no mesmo estudo, como a exposição à luz solar e a volatilização aumentaram a degradação dos pesticidas para 31%.
- ***Bacillus polymyxa*** - é uma bactéria gram-positiva, mesófila, que produz esporos ovais, de paredes espessas, caracterizada por produzir 2,3-butanodiol e acetoína, produzindo também acetato de etila, etanol e diacetil, sendo também fixador de nitrogênio (LUERCE, 2002).
- ***Bacillus amyloliquefaciens*** – *B. amyloliquefaciens* IT-45 possui perfil bioquímico muito semelhante ao de *B. subtilis*, mas possui maior percentual molecular de bases Guanina + Citosina em seu DNA e produz mais α-amilase. (LIMA, 2017); No trabalho realizado por Hlordzi (2020), onde simularam águas efluentes da aquicultura, foi possível observar que *B. amyloliquefaciens* foi eficiente na remoção de nitrito, mas sua remoção de amônia foi dependente das condições de pH e temperatura da água.
- ***Bacillus cereus*** - possui perfil bioquímico muito semelhante ao de *B. megaterium* ; de acordo com Wróbel (2023) este gênero bacteriano possui diversas estratégias de biorremediação, incluindo biossorção, biossorção mediada por substância polimérica extracelular (EPS), bioacumulação ou bioprecipitação;

Um bom biorremediador, portanto, deve ser capaz de reduzir o impacto causado pelos poluentes presentes nos efluentes sanitários. Os *Bacillus spp.* pode reduzir as quantidades de metais, tais como: chumbo, cádmio, mercúrio, cromo, arsênico ou níquel; Além dos metais, os *Bacillus spp.* também são capazes de reduzir as quantidades de $DBO_{5,20}$ e DQO, compostos nitrogenados e fósforo. O gênero *Bacillus spp.,* como: *Bacillus subtilis, Bacillus licheniformis, Bacillus amyloliquefaciens IT-45, Bacillus cereus, Bacillus coagulans e o gênero Phenibacillus, como Phenibacillus polymyxa,* são bons exemplos de biorremediadores (WRÓBEL, 2023).

OBJETIVO(S)

O objetivo desta pesquisa foi desenvolver uma metodologia que viabilizasse a introdução de microrganismos eficazes no Biosabão, para acelerar a biodegradação da matéria orgânica carbonácea presente em efluentes sanitários representada pelas Demandas Bioquímicas e Químicas de Oxigênio (DQO e $DBO_{5,20)}$. Nitrogênio e Fósforo, tornando-se uma solução para reduzir os impactos ambientais causados por lançamentos irregulares.

METODOLOGIA UTILIZADA

Para iniciar a pesquisa foi necessário desenvolver uma receita de Biosabão em barra que fosse biodegradável e de fácil fabricação. Para tanto, foram realizados dois testes: o primeiro, conhecido como processo à quente, que consiste em aquecer o óleo vegetal até a temperatura do material atinja 70°C, adicionar ácido esteárico, mexer até ficar bem homogeneizado a uma temperatura em torno 70°C a 80°C, utilizar banho aquecido, neste ponto adiciona-se hidróxido de sódio 73% com 99% de pureza, dissolvido em água morna, à mistura de óleo vegetal e ácido esteárico, mexendo até ficar homogêneo, adicionar etanol 96% e completar restante da receita e mexendo em velocidade constante, mantendo a temperatura do material em torno de 70° e 80°C até que os ingredientes estejam bem homogeneizados e a mistura fique transparente, em seguida a essência é adicionada à base e depois despejada em os moldes para secar.

O segundo teste de fabricação de sabão foi o processo a frio, onde o calor é resultado de uma reação química do hidróxido de sódio ao entrar em contato com o óleo vegetal, iniciando o processo de saponificação. A lixivia é preparado com 60% de água fria e 30% de hidróxido de sódio com 99% de pureza, mexendo até diluir completamente, aguardando esfriar até a temperatura atingir entre 36° e 40°C. Enquanto a lixivia esfria, prepare a base de gordura vegetal com 70% de óleo de palmiste, 30% de óleo de soja, acrescente o corante. Após homogeneizar o corante, adicionar a lixivia, mexendo sempre em velocidade constante de 17 rpm, Figura 1 (c) e (d). Espere a mistura atingir a temperatura de 25°C e despeje nas formas para secar. Vale ressaltar que nas duas receitas testadas foram adicionados 10% de microrganismos (ME01 e ME02).

Estes testes tiveram como objetivo avaliar a eficiência nos seguintes índices: Condicionamento; Limpeza; Bolhas; Persistência; Dureza; Solubilidade e Secagem para viabilidade do Biosabão.

Para testar a viabilidade de microrganismos eficazes no Biosabão, inicialmente foram escolhidas duas misturas comerciais (inóculo) de microrganismos (ME01 e ME02). Para tanto, o produto ME01 foi ativado considerando as recomendações do fabricante sobre Bioaumento de unidades formadoras de colônias (UFC/100mL) na quantidade de 10^8 UFC/100mL. Este processo utilizou 5% da mistura (inóculo), 5% de melaço (fonte de carbono) como ativador e 90% de água limpa e sem cloro (proporção 1:1:9) após utilização de misturador por 1h a 30 rpm, Figura 1 (a) e (b), cujo inóculo foi deixado crescer por 5 dias em temperatura ambiente.

O produto ME02 foi ativado, considerando as recomendações do fabricante, sendo o Ativador (fonte de carbono) fornecido junto com o blend (inóculo). Para o bioaumento utilizou-se 10% do blend, 2% do Ativador (pó) dissolvido em 90% de água isenta de cloro, para homogeneizar a solução foi utilizado um misturador por 1h a 30 rpm, Figura 1 (a) e (b), o inóculo foi deixado crescer durante 5 dias à temperatura ambiente. Após o período de crescimento, foram retiradas alíquotas para metagenômica e para testes no próprio Biosabão.

Para a análise metagenômica de bactérias, foi realizado sequenciamento de alto desempenho das regiões V3-V4 do gene 16S rRNA. A preparação da biblioteca seguiu um protocolo proprietário (Neoprospecta Microbiome Technologies, Brasil). A amplificação foi realizada utilizando primers para a região V3-V4 do gene 16S rRNA, 341F com sequência (CCTACGGGRSGCAGCAG) e 806R com sequência (GGACTACHVGGGTWTCTAAT), doi: 10.1371/journal.pone.0007401 / doi: 10.1038/ismej.2012.8). As bibliotecas foram sequenciadas usando o Sistema de Sequenciamento MiSeq (ILLUMINA Inc., EUA). Para sequenciamento emparelhado, kits V3 com 600 ciclos ou kits V2 com 500 ciclos podem ser usados. Se for single end, utiliza-se o kit V2 com 300 ciclos.

As sequências foram analisadas utilizando o SENTINEL PIPELINE, onde os arquivos FASTA são avaliados quanto à Qualidade Phred (PQ) utilizando o programa FastQC v.0.11.8 (ANDREWS, 2010). Em seguida, os arquivos FASTA são submetidos a corte para primers e sequências de baixa qualidade (Phred <20). O software proprietário utilizado para esse fim foi construído em Python v.3.6, que foi inspirado nas funcionalidades do projeto BioPython (COCK et al. 2009). Para dados PAIRED-END, antes da etapa de corte, dois pares de arquivos (R1 e R2) são unidos em um único arquivo usando pandaseq v.2.11 (MASELLA et al., 2012). CLUSTERS com abundância inferior a 5 são retirados da análise, pois tais estruturas são normalmente relacionadas a sequências quimeras (SMYTH et al., 2010). As identificações taxonômicas são realizadas com blastn v.2.6.0+ (ALTSCHUL et al., 1990), utilizando como referência uma base de dados proprietária ou pública. Quanto à definição de uma espécie, dentre os 20 acertos retornados para cada cluster, uma instrução Python avalia se um dos três requisitos seria atendido pelos HITS: 1) maior BIT-SCORE; 2) menor E-VALOR; e 3) taxonomias com maior representatividade. As espécies são definidas usando 99% de identidade.

Os HITS que atenderam a um dos itens anteriores foram escolhidos como espécies representativas. Essas análises foram realizadas na plataforma de computação Google Cloud, onde está hospedada a estrutura de bioinformática da Neoprospecta. As análises bacterianas e fúngicas de DMD podem ser realizadas em bancos de dados de referência para genes 16S rRNA e ITS proprietários ou públicos. As bases de dados públicas que tínhamos disponíveis são QUAST (GUREVICH et al., 2013) e Greengenes (DESANTIS et al., 2006).

Após testar a viabilidade dos microrganismos no Biosabão, com os dois Bioinsumos (ME01 e ME02), foi realizada a identificação taxonômica dos microrganismos resistentes ao processo de saponificação, estes foram isolados e identificados através do teste API da Biomerieux. Após a identificação dos microrganismos, ele foi colocado em meio de cultura adequado para bioaumento para utilização em um novo teste no Biosabão.

Com a finalidade de bioaumentar o número de células viáveis no Biosabão, foram testados o microrganismo resistente desprotegido isolado do bioinsumo e o microrganismo encapsulado e microencapsulado; para tanto, foi adquirido um produto comercial (*B. subtilis CCT 0089)*. Para a realização do experimento de fabricação do Biosabão com esses microrganismos (resistentes e encapsulados e microencapsulados), foi utilizada a receita do sabão (processo a frio), conforme descrito acima. Após a colocação em moldes de secagem, foi adicionado 10% do microrganismo resistente com 1x10^8 UFC (líquido) e 1% de microrganismos encapsulados com 1x10^9 UFC (sólido), cuja composição da cápsula continha cloreto de sódio, caulim, dióxido de silício. Deixados para secar por 24 horas, foram desenformados e cortados, colocados em caixas para descansar por 6 semanas para finalizar o processo de saponificação.



(a) (b)

(c) (d)

Figura 1 – foto - (a) Processo de bioaumentação do produto; (b) Produto após 5 dias para Bioaumento; (c) primeiras receitas de Biosabão com óleo reaproveitado e Bioinsumos (100g); (d) primeiras receitas de Biosabão com óleo de coco e Bioinsumos (100g).

RESULTADOS OBTIDOS

Os resultados dos testes dos Biosabões mostraram que ambas as receitas apresentaram baixa solidificação, Figura 1, isso se deveu à baixa qualidade do hidróxido de sódio com 50% de pureza.

Para obter melhor qualidade, optou-se por alterar o hidróxido de sódio de 50% para 99% de pureza. Com a troca do produto por um de maior pureza nas formulações, o desempenho no processo a frio melhorou, conforme apresentado nos índices de qualidade na Tabela 1.

tabela 1 – resultado da análise da qualidade do sabão

ÍNDICES	GRAU (%)	GRAU IDEAL (%)
Condicionamento	51	50
Limpeza	50	50
Bolhas	53	50
Persistência	42	50
Dureza	47	50
Solubilidade	53	50
Secagem	46	50

Fonte: autores

Com a receita do Biosabão biodegradável estabilizada, Figura 2 (a), começaram as pesquisas para inocular microrganismos eficazes a partir de misturas comerciais.



(a) (b)

Figura 2– (a) Da esquerda para a direita da linha superior estão amostras com pH 14; pH 8; pH8. E da esquerda para a direita da linha inferior estão amostras com pH 8; pH 8 e pH 14. (b) escala de titulação de pH.

A pesquisa teve como foco a preservação de células viáveis de microrganismos, e os primeiros testes realizados foram com o blend comercial ME01, no qual foi realizada uma análise metagenômica para identificação dos microrganismos presentes no produto, conforme mostrado na Tabela 2.

Tabela 2– resultado da análise metagenômica em Número de sequências de DNA, melaço como ativador

Microrganismos encontrados	ME01
Acetobacter	1,00
Bacilo	5h00
Heyndrickxia	30h00
Lactobacilos	170,00
Lisinibacillus	5.578,00
Niália	55.553,00
Oceanobacilo	0,00
Paenibacillus	30,00
Sacerdote	1,00
Ureibacilo	50.681,00
Brettanomyces	131,00
Brettanomyces	0,00
Pichia	0,00
Saccharomyces	1,00
Pichia	26.923,00

Fonte: autores

A preservação de células viáveis de microrganismos nos primeiros testes foi baixa e, em alguns casos, até nula. Os testes foram iniciados variando as concentrações da mistura ME01, alterando o método de bioaumentação, o ponto de aplicação e o controle de temperatura no processo de fabricação do Biosabão. Contudo, os resultados não foram satisfatórios.

Portanto, iniciaram-se os testes com outro blend comercial, o ME02, no qual também foi realizada uma análise metagenômica para identificação dos microrganismos presentes no produto, conforme mostrado na Tabela 3.

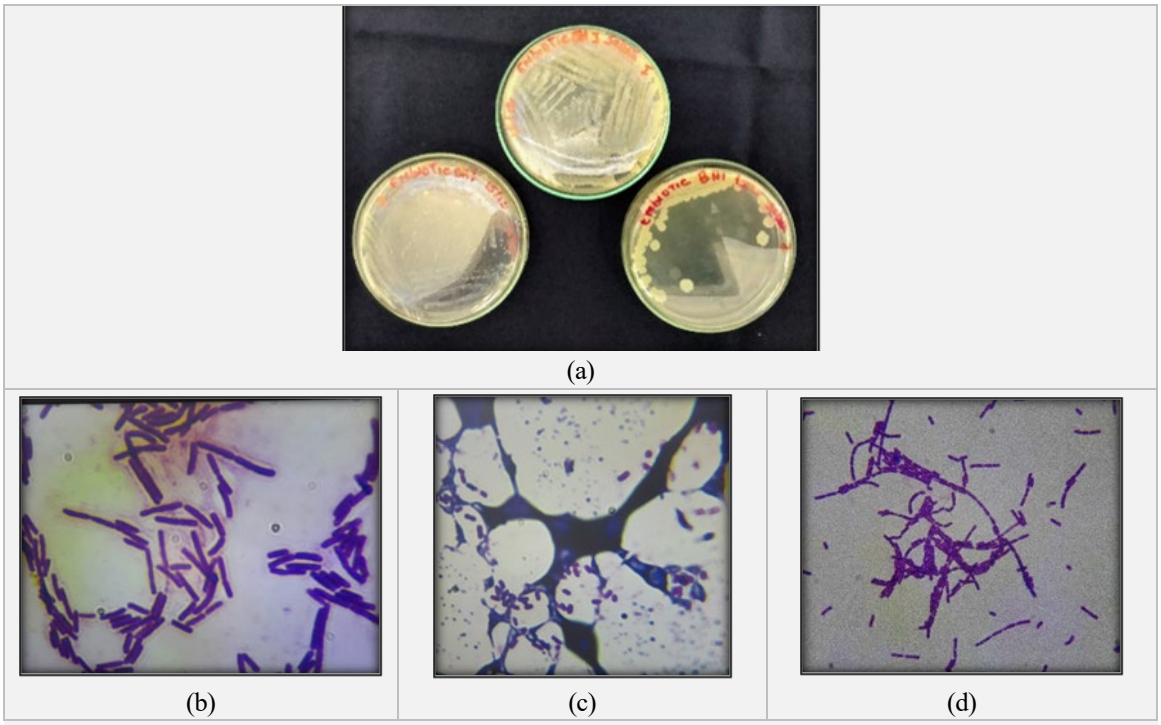
Tabela 3 – resultado da análise metagenômica em número de sequências de DNA.

Microrganismos encontrados	ME02	ATIVADOR
Acetobacter	12.698,00	0,00
Bacilo	0,00	4.198,00
Heyndrickxia	3,00	44.528,00
Lactobacilos	2.171,00	0,00
Lisinibacillus	0,00	0,00
Niália	1,00	7.805,00
Oceanobacilo	0,00	1.192,00
Paenibacillus	0,00	342,00
Sacerdote	2,00	9.798,00
Ureibacilo	1,00	1,00
Brettanomyces	0,00	0,00
Brettanomyces	4.960,00	0,00
Pichia	0,00	5h00
Saccharomyces	2h00	31.903,00
Pichia	74.696,00	2h00

Fonte: autores

Os testes com ME02 seguiram os mesmos procedimentos de fabricação do Biosabão utilizados com ME01. No entanto, os resultados também não foram satisfatórios.

Durante os testes do Biosabão com os blends ME01 e ME02 (inóculo), foi observado um baixo número de células viáveis, em torno de 10^2 UFC, conforme mostrado na Figura 3. Foi identificado o grupo *Bacillus spp.* no Biosabão. Embora o crescimento não tenha sido significativo, os microrganismos conseguiram sobreviver ao processo de saponificação.



(a)

(b) (c) (d)

Figura 3 – (a) análise de sobrevivência de microrganismos em amostras de Biosabão com plaqueamento em meio de cultura; (b) (c) e (d) análise de sobrevivência de microrganismos em amostras de Biosabão com método Gran Positivo e Negativo.

A identificação taxonômica, através do teste API da Biomerieux, do microrganismo resistente isolado indicou tratar-se de *Bacillus subtilis, em seguida iniciou-se processo de bioaumento em meio de cultura até* atingir concentração de 1x10^8 UFC, Figura 3.

Um novo teste foi realizado utilizando os isolados no Biosabão mas manteve os procedimentos com a fabricação do Biosabão a partir de blendas anteriores, Figura 4. Porém os resultados não tiveram concentração desejável para boa eficiência no tratamento da matéria orgânica presente em efluentes sanitários.



Figura 4 – foto com isolados em Biosabão (∅75mm e 100g).

Com a baixa concentração de células viáveis nos experimentos, os estudos passaram a ter como objetivo proteger os microrganismos e torná-los mais resistentes ao processo de saponificação. O teste começou com microrganismos encapsulados e microencapsulados, cuja composição da cápsula continha cloreto de sódio, caulim e dióxido de silício. A concentração de microrganismos, segundo o fabricante, foi de 1,0x10^8 UFC.

Nos testes com os produtos encapsulados, foram mantidos os procedimentos de fabricação do Biosabão utilizados nas blendas anteriores. No entanto, o material encapsulado sedimentou no fundo do molde (Figura 5), causando falta de homogeneização dos microrganismos ao longo do Biosabão. Dessa forma, o procedimento de aplicação das substâncias encapsuladas foi modificado, passando a ser adicionado após a massa do Biosabão ganhar forma. Nesse procedimento, a sobrevivência pós-uso atingiu 4,0x10^5 UFC/g com a aplicação de 1% de microrganismos encapsulados.



Figura 5– foto do Biosabão com microrganismos encapsulados (∅75mm e 100g).



Figura 6– foto do Biosabão com microrganismos Microencapsulados (∅75mm e 100g).

Foi realizado um novo teste com o produto microencapsulado, e o resultado foi satisfatório no aspecto visual (Figura 6). O Biosabão apresentou, em análise, boa qualidade nos parâmetros do agente de limpeza e, principalmente, na concentração de células viáveis (Tabela 4) para a inoculação do sistema de tratamento de uma residência unifamiliar.

Tabela 4 – resultado da análise de eficiência do Biosabão.

Índice	Experimentos		
	1	**2**	**3**
pH antes de secar	14	12.4	12,5
Iodo	192	186	179
Condicionamento - %	46	46	51
Limpeza - %	59	58	50
Bolhas - %	59	59	53
Persistência - %	49	49	42
Dureza - %	45	45	47
Solubilidade - %	55	55	53
Secagem - %	54	53	46
Microrganismos - UFC/g	$>10^{2}$	$>10^{2}$	$4{,}0\times10^{5}$
Temperatura ao aplicar microorganismos - °C	85	25,5	34
Lixivia (Hidróxido de Sódio) - % pureza	50	99	99
pH após secagem	14	8	8

Fonte: autores

ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Este estudo ressalta a aplicabilidade e os benefícios ambientais do Biosabão com Microrganismos Eficazes (ME), utilizando técnicas de microencapsulação para melhorar a viabilidade e eficácia dos microrganismos durante o processo de saponificação. A técnica de microencapsulação, já bem estabelecida nas indústrias alimentícia e farmacêutica para proteger e liberar ingredientes ativos de forma controlada, provou-se crucial para a estabilidade dos MEs sob condições adversas e durante a reação de saponificação (LAURENTI et al., 2013; PEANPARKDEE et al., 2016).

A introdução de microrganismos eficazes em produtos de limpeza não só aumenta a degradação de materiais orgânicos nas águas residuais, mas também promove a biorremediação in situ, uma abordagem emergente para o tratamento de águas residuais. Estudos demonstraram a capacidade de microrganismos como *Bacillus spp.* na redução da concentração de metais pesados e outros poluentes, destacando o seu papel potencial na mitigação dos efeitos da poluição aquática e na melhoria da qualidade da água (WRÓBEL et al., 2023).

No contexto da legislação ambiental, produtos como o Biosabão respondem diretamente às exigências de soluções mais ecológicas e sustentáveis nos produtos de consumo diário. A lei brasileira nº 7.365 de 1985 é um exemplo de como as regulamentações podem incentivar a inovação em produtos ecologicamente corretos, exigindo a incorporação de componentes biodegradáveis em detergentes e sabões (Anvisa, 1999).

Além disso, a discussão sobre os impactos ambientais dos detergentes sintéticos versus alternativas biológicas destaca uma necessidade crítica de mudança na indústria. O Biosabão representa um passo significativo nesta direção, oferecendo uma alternativa prática e eficiente que alia uma limpeza eficaz à responsabilidade ambiental.

Para pesquisas futuras, recomenda-se explorar uma gama mais ampla de microrganismos e técnicas de encapsulamento. A diversificação dos MEs poderia oferecer uma gama mais ampla de atividades biológicas e aumentar a eficácia do produto sob diferentes condições ambientais. A investigação do impacto a longo prazo da utilização do Biosabão em comunidades reais, especialmente em áreas sensíveis, como regiões costeiras ou urbanas densamente povoadas, forneceria informações valiosas sobre a sua eficácia e sustentabilidade ambiental.

Além disso, estudos que avaliem o ciclo de vida completo do Biosabão, desde a produção até o descarte, ajudariam a compreender melhor seu impacto ambiental geral e a otimizar ainda mais sua formulação e aplicação. Esta

abordagem holística é essencial para satisfazer as necessidades dos consumidores e os imperativos de conservação ambiental.

CONCLUSÕES/RECOMENDAÇÕES

A pesquisa demonstrou que é altamente viável a fabricação de um saneante pelo processo a frio, onde a inoculação com microrganismos microencapsulados não só proporcionou um custo-benefício favorável pela eficiência do processo e redução do consumo de energia, como também resultou em um produto com aparência visual superior e recursos aprimorados de segurança e usabilidade. Além disso, a utilização de microrganismos eficazes microencapsulados contribuiu significativamente para a estabilidade e eficácia prolongada do produto, tornando-o uma alternativa sustentável e eficiente aos detergentes convencionais.

Considerando as capacidades comprovadas das espécies de *Bacillus spp.* como agentes de biorremediação eficazes na redução de metais pesados e na redução dos níveis de $DBO_{5,20}$ e DQO, bem como na transformação de compostos nitrogenados e fósforo, a formulação do Biosabão foi otimizada para incluir uma mistura de microrganismos especialmente selecionados. A composição proposta inclui B*acillus subtilis, Bacillus licheniformis, Bacillus amyloliquefaciens* e *Bacillus megaterium*, cada um contribuindo com 1,5x10^8 UFC/g, complementados por Saccharomyces cerevisiae na mesma concentração, para maximizar a eficácia da biorremediação. Esta abordagem estratégica não só melhora a funcionalidade do produto como agente de limpeza, mas também amplia o seu papel na mitigação dos impactos ambientais adversos associados ao tratamento e eliminação de águas residuais domésticas.

PATENTES

Não aplicável.

FINANCIAMENTO

Esta pesquisa foi financiada pela Companhia de Desenvolvimento de Maricá - CODEMAR.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALTSCHUL, S.F; LIPMAN, D. J. Banco de dados de proteínas procura alinhamentos múltiplos. Anais da Academia Nacional de Ciências, v. 87, n. 14, pág. 5509-5513, 1990.

2. ANVISA Guia de controle de qualidade de produtos cosméticos - Uma abordagem sobre os ensaios físicos e químicos. (“Copyright © 2008. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. José Agenor ...”) Brasília, p. 18 - 121, 2008.

3. ANVISA Resolução n°482, de 23 de setembro de 1999, Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de óleos e gorduras vegetais, Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 1999.

4. BAKER, I. J.A.; DRUMMOND, C. J.; FURLONG, DN. N.; GRIESER, F. Surfactant biodegration: sugar-based surfactants compared to other surfactants. In: Zoller, U. (ed). CRC Press, 2004. Handbook of Detergents – Part B: Environmental Impact. Ch. 28, p. 739-760.

5. CHIMELLO, C.M.; BRUZA, F.B.; RAMOS, M.J.; SILVA, R.C.S.; KREMER, C.K. Estudo sobre a escolha do tipo de detergente utilizado pelos consumidores de Itatiba. Revista Ciências do Ambiente On-Line. v. 8, n° 1, p. 60-61, 2012.

6. COCK, P.J.A. et al. BioPython: ferramentas Python disponíveis gratuitamente para biologia molecular computacional e bioinformática. Bioinformática, v. 25, n. 11, pág. 14-22, 2009.

7. DANTAS F.; SILVA, G. N.; COSTA, A. S. Processo de ensino-aprendizagem dos conceitos de ácidos e bases com a inserção da experimentação utilizando a temática sabão ecológico. Holos, v. 2, p. 161-173, 2017.

8. DESANTIS, T. Z. et al. Greengenes, um banco de dados de genes 16S rRNA verificado por quimera e uma bancada de trabalho compatível com ARB. Microbiologia aplicada e ambiental, v. 72, n. 7, pág. 5069-5072, 2006.

9. FELIPE, L.O.D., CÁSSIA, S. Surfactantes sintéticos e biossurfactantes: vantagens e desvantagens. Química Nova – São Paulo-SP, BR. Vol. 39, N° 3, p. 228-236, AGOSTO 2017.

10. GHANBARZADEH, M.; GOLMORADIZADEH, A.; HOMAEI, A. Carrageenans and carrageenases: Versatile polysaccharides and promising marine enzymes. Phytochemistry Reviews, v. 17, n. 3, p. 535-571, 2018.

11. GUREVICH, A. et al. QUAST: ferramenta de avaliação de qualidade para montagens de genoma. Bioinformática, v. 29, n. 8, pág.1072-1075, 2013.

12. HASAN, F.; SHAH, A. A.; HAMEED, A. Aplicações industriais de lipases microbianas. Tecnologia enzimática e microbiana, v. 39, n.2, p.235-251, 2006.

13. HLORDZI, V. et al. The use of Bacillus species in maintenance of water quality in aquaculture: A review. Aquaculture Reports, v. 18, p. 100-503, 2020.

14. LAURENTI, E.; GARCIA, S. Efficiency of natural and commercial encapsulating materials in controlled release of encapsulated probiotics. Brazilian Journal of Food Technology, v. 16, p. 107-115, 2013.

15. MACHADO, T. et al. Produção de biossurfactantes bacterianos em solos utilizando bioaumentação e bioestimulação. 2018.

16. MASELLA, A. P. et al. PANDAseq: montador emparelhado para sequências de iluminação. Bioinformática BMC, v. 13, p.1-7, 2012.

17. MARTINS, S. e BIRAL, P. Saboaria Natural, saponificação a frio, Cold Process, Bahia, Brazil, © CERIES, 2019;
18. MELO, I.S. Microbiologia ambiental. ed. rev. ampl. - Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 647 p, 2008.

19. MULLIGAN, C. N.; SHARMA.S. K.; MUDHOO, A.; MAKHIJANI, K. Green chemistry and biosurfactant research. In: MULLIGAN, C. N.; SHARMA.S. K.; MUDHOO, A. (ed.). Taylor & Francis Group, 2014. Biosurfactants: Research Trends and Applications. Ch. 1, p. 1-30.

20. OLIVEIRA, H.M. et al. Redução de matéria orgânica com aplicação de Bacillus subtilis e B. licheniformis em sedimentos provenientes de viveiro de policultivo de Litopenaeus vannamei com Oreochromis niloticus. 2021.

21. OSADEBE, A. U. CHINELO, A. O. BUKOLA, M. S. GIDEON C. O. Microbial Degradation of Anionic Surfactants from Laundry Detergents Commonly Discharged into a Riverine Ecosystem. Department of Microbiology, University of Port Harcourt, Choba, Nigeria. April 2018.

22. PEANPARKDEE, M.; IWAMOTO, S.; YAMAUCHI, R. Microencapsulation: a review of applications in the food and pharmaceutical industries. Reviews in Agricultural Science, v. 4, p. 56-65, 2016.

23. PENTEADO, J.C.P.; EL SEOUD, O.A.; CARVALHO, L.R.F. Alquilbenzeno sulfonato linear: uma abordagem ambiental e analítica. Química Nova. v. 29, n. 5, p. 1038-1046, 2006.

24. PHIPSON, B.; SMYTH, G. K. Os valores P de permutação nunca devem ser zero: calculando valores P exatos quando as permutações são sorteadas aleatoriamente. Aplicações estatísticas em genética e biologia molecular, v. 9, n. 1, 2010.

25. SANCHEZ D.G., GREGORIO, J., LOPEZ,H. ANDRÉS,C. Degradação de Aldrin por Bacillus licheniformis, isolado de água e sedimentos de Ciénaga Grande, Santa Marta, Colômbia. Acta biol. Colomb. [on-line].2012, vol.17, n.1, pp.67-76. ISSN 0120-548X.

26. STEEMERS, F J.; GUNDERSON, K. L. Whole genome genotyping technologies on the BeadArray™ platform. Biotechnology Journal: Healthcare Nutrition Technology, v. 2, n. 1, p. 41-49, 2007.WRÓBEL, Monika et al. Bioremediation of Heavy Metals by the Genus Bacillus. International Journal of Environmental Research and Public Health, v. 20, n. 6, p. 4964, 2023.

27. FAVARO-TRINDADE, C S. et al. Encapsulation of active/bioactive/probiotic agents. In: Edible Films and Coatings. CRC Press, 2016. p. 363-378.