

**BIOSURFACTANTES: PROPRIEDADES E APLICAÇÕES****Marcia Nitschke\* e Gláucia Maria Pastore**

Departamento de Ciência de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, CP 6121, 13083-970 Campinas - SP

Recebido em 2/5/01; aceito em 11/3/02

BIOSURFACTANTS: PROPERTIES AND APPLICATIONS. Chemically synthesized surfactants are widely used for many purposes in almost every sector of modern industry. Surface-active compounds of biological origin (biosurfactants) have been gaining attention in recent years because of some advantages such as biodegradability, low toxicity, diversity of applications and functionality under extreme conditions. Microbial biosurfactants are useful in bioremediation of water and soil, enhanced oil recovery, and in many formulations of petrochemical, chemical, pharmaceutical, food, cosmetic and textile industries. The importance of biosurfactants, their characteristics and industrial applications are discussed.

Keywords: biosurfactants; surfactants; surface-active compounds.

**INTRODUÇÃO**

Os surfactantes constituem uma classe importante de compostos químicos amplamente utilizados em diversos setores industriais.

A grande maioria dos surfactantes disponíveis comercialmente são sintetizados a partir de derivados de petróleo. Entretanto, o crescimento da preocupação ambiental entre os consumidores, combinado com novas legislações de controle do meio ambiente levaram à procura por surfactantes naturais como alternativa aos produtos existentes. Os surfactantes são moléculas anfipáticas constituídas de uma porção hidrofóbica e uma porção hidrofílica. A porção apolar é freqüentemente uma cadeia hidrocarbonada enquanto a porção polar pode ser iônica (aniônica ou catiônica), não-iônica ou anfotérica<sup>1</sup>. Alguns exemplos de surfactantes iônicos utilizados comercialmente incluem ésteres sulfatados ou sulfatos de ácidos graxos (aniônicos) e sais de amônio quaternário (catiônico).

Em função da presença de grupos hidrofílicos e hidrofóbicos na mesma molécula, os surfactantes tendem a se distribuir nas interfaces entre fases fluidas com diferentes graus de polaridade (óleo/água e água/óleo). A formação de um filme molecular, ordenado nas interfaces, reduz a tensão interfacial e superficial, sendo responsável pelas propriedades únicas dos surfactantes. Estas propriedades fazem os surfactantes serem adequados para uma ampla gama de aplicações industriais envolvendo: detergência, emulsificação, lubrificação, capacidade espumante, capacidade molhante, solubilização e dispersão de fases. A maior utilização dos surfactantes se concentra na indústria de produtos de limpeza (sabões e detergentes), na indústria de petróleo e na indústria de cosméticos e produtos de higiene. A produção mundial de surfactantes excede 3 milhões de toneladas por ano<sup>2</sup>, sendo a maioria utilizada como matéria-prima para fabricação de detergentes de uso doméstico.

Vários compostos com propriedades tenso-ativas são sintetizados por organismos vivos, desde plantas (saponinas) até microrganismos (glicolipídios) e também no organismo humano (sais biliares), sendo considerados surfactantes naturais<sup>3</sup>.

Atualmente, nos países industrializados 70-75% dos surfactantes consumidos são de origem petroquímica, enquanto que nos países em desenvolvimento os compostos de origem natural predominam<sup>3</sup>. En-

tretanto, nos países industrializados existe uma tendência para a substituição dos surfactantes sintéticos pelos naturais. Esta tendência é movida pela necessidade de produtos mais brandos, pela necessidade de substituição de compostos não biodegradáveis (alquil benzenos ramificados) e pelo aumento da especificidade dos produtos.

Os compostos de origem microbiana que exibem propriedades surfactantes, isto é, diminuem a tensão superficial e possuem alta capacidade emulsificante, são denominados biossurfactantes<sup>4</sup> e consistem em subprodutos metabólicos de bactérias, fungos e leveduras. Este trabalho tem por objetivo revisar os principais aspectos relacionados à estrutura química, origem, propriedades e usos dos biossurfactantes.

**CLASSIFICAÇÃO E NATUREZA QUÍMICA DOS BIOSURFACTANTES**

Os biossurfactantes constituem uma das principais classes de surfactantes naturais (Tabela 1), sendo classificados de acordo com a sua composição química e sua origem microbiana. As principais classes incluem glicolipídios, lipopeptídios e lipoproteínas, fosfolipídios e ácidos graxos, surfactantes poliméricos e surfactantes particulados<sup>5</sup>.

**Tabela 1.** Principais grupos de surfactantes de origem natural e sintética

Naturais	Sintéticos
Alquil poliglicosídeos	Alcanolaminas
Biossurfactantes	Alquil e aril éter carboxilatos
Amidas de ácidos graxos	Alquil aril sulfatos
Aminas de ácidos graxos	Alquil aril éter sulfatos
Glucamidas	Alquil etoxilados
Lecitinas	Alquil sulfonatos
Derivados de proteínas	Alquil fenol etoxilados
Saponinas	Aminoóxidos
Sorbitol e ésteres de sorbitan	Betaínas
Ésteres de sacarose	Co-polímeros de óxido de etil/propileno
Sulfatos de álcoois graxos naturais	Ácidos graxos etoxilados

\*e-mail: nitschke@bol.com.br

Os biossurfactantes poliméricos são constituídos por diversos grupos químicos diferentes como, por exemplo, o emulsan (Figura 1), no qual ácidos graxos estão ligados a um esqueleto de heteropolissacarídeos<sup>6</sup>, ou o liposan de *C. lipolytica*, constituído por carboidratos e proteínas<sup>7</sup>.

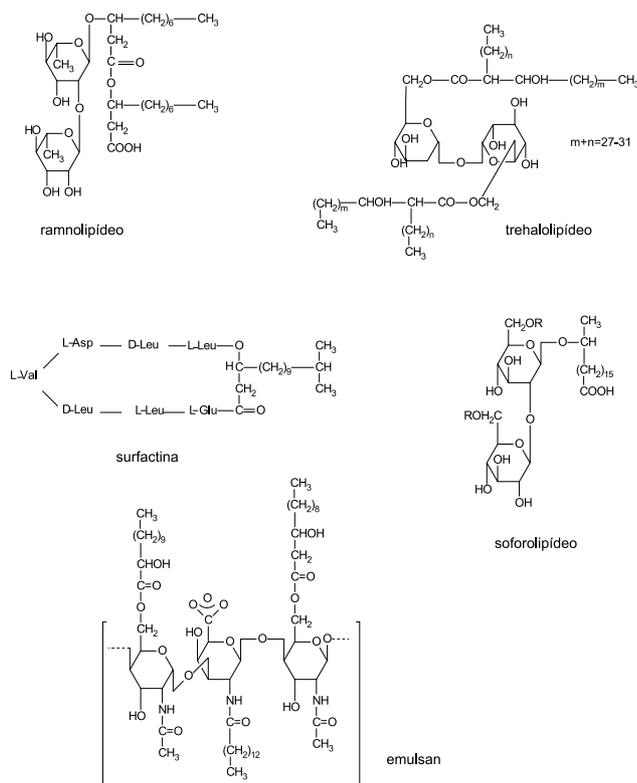


Figura 1. Estruturas químicas de alguns biossurfactantes<sup>4</sup>

Algumas células microbianas apresentam elevada hidrofobicidade superficial, sendo consideradas por si só como biossurfactantes, como por exemplo, microrganismos degradadores de hidrocarbonetos, algumas espécies de *Cyanobacteria* e alguns patógenos como *S. aureus* e *Serratia sp.* Bactérias do gênero *Acinetobacter sp.* produzem vesículas extracelulares que tem função importante na captação de alcanos para a célula, possuindo elevada atividade surfactante<sup>8</sup>. As vesículas e células microbianas com atividade surfactante são classificadas como biossurfactantes particulados.

Os biossurfactantes possuem uma estrutura comum: uma porção lipofílica usualmente composta por cadeia hidrocarbônica de um ou mais ácidos graxos, que podem ser saturados, insaturados, hidroxilados ou ramificados, ligados à uma porção hidrofílica, que pode ser um éster, um grupo hidróxi, fosfato, carboxilato ou carboidrato<sup>3,4</sup>. A maioria dos biossurfactantes são neutros, ou aniônicos variando desde pequenos ácidos graxos até grandes polímeros (Tabela 2).

## FUNÇÃO FISIOLÓGICA DOS BIOSURFACTANTES

Embora a exata função fisiológica dos biossurfactantes ainda não tenha sido completamente elucidada, algumas funções têm sido atribuídas:

- emulsificação e solubilização de hidrocarbonetos ou compostos insolúveis em água, facilitando o crescimento de microrganismos nestes substratos<sup>9</sup>. Porém, cepas de *Bacillus subtilis* produzem surfactantes apenas em substratos hidrossolúveis<sup>10</sup>;

Tabela 2. Principais classes de biossurfactantes e microrganismos envolvidos<sup>1</sup>

Tipo de Biossurfactante	Microrganismo
<b>Glicolipídios</b>	
- ramnolipídios	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
- sofrorolipídios	<i>Torulopsis bombicola</i> , <i>T. apicola</i>
- trehalolipídios	<i>Rhodococcus erythropolis</i> , <i>Mycobacterium sp.</i>
<b>Lipopeptídios e lipoproteínas</b>	
- Peptídio-lipídio	<i>Bacillus licheniformis</i>
- Viscosina	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
- Serrawetina	<i>Serratia marcescens</i>
- Surfactina	<i>Bacillus subtilis</i>
- Subtilisina	<i>Bacillus subtilis</i>
- Gramicidina	<i>Bacillus brevis</i>
- Polimixina	<i>Bacillus polymyxa</i>
<b>Ácidos graxos, lipídios neutros e fosfolipídios</b>	
- Ácidos graxos	<i>Corynebacterium lepus</i>
- Lipídios neutros	<i>Nocardia erythropolis</i>
- Fosfolipídios	<i>Thiobacillus thiooxidans</i>
<b>Surfactantes poliméricos</b>	
- emulsan	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
- biodispersan	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
- liposan	<i>Candida lipolytica</i>
- carboidrato-lipídio-proteína	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
- manana-lipídio-proteína	<i>Candida tropicalis</i>
<b>Surfactantes particulados</b>	
- vesículas	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
- células	Várias bactérias

- transporte de hidrocarbonetos: função atribuída aos biossurfactantes ligados à parede celular de *Candida tropicalis*<sup>11</sup>, onde um aumento significativo da porção lipídica do polissacarídeo de membrana foi detectado quando o microrganismo crescia em alcanos, indicando que o complexo polissacarídeo-ácido-graxo presente na superfície celular estaria envolvido no transporte de hidrocarbonetos;
- aderência-liberação da célula a superfícies: uma das mais importantes estratégias de sobrevivência dos microrganismos é sua habilidade em colonizar um nicho ecológico onde possa se multiplicar. O elemento chave nesta estratégia são estruturas da superfície celular responsáveis pela aderência das células à superfícies. Os microrganismos podem utilizar surfactantes ligados à parede para regular as propriedades da superfície celular, visando aderir ou se desligar de um determinado local de acordo com sua necessidade para encontrar novos *habitats* com maior disponibilidade de nutrientes ou se livrar de ambientes desfavoráveis<sup>12</sup>;
- atividade antibiótica: demonstrada por vários biossurfactantes, principalmente da classe dos lipopeptídios e glicopeptídios. Os ramnolipídios de *P. aeruginosa* e a surfactina (Figura 1) de *B. subtilis* funcionam como antibióticos, solubilizando os principais componentes das membranas celulares microbianas. Através da excreção destes biossurfactantes no meio, os microrganismos adquirem maior chance de sobrevivência e maior competitividade na busca por nutrientes<sup>13</sup>.

## PROPRIEDADES DOS BIOSURFACTANTES

Apesar da diversidade de composição química e propriedades, algumas características são comuns à maioria dos biossurfactantes.

Muitas destas características representam vantagens sobre os surfactantes convencionais<sup>3</sup>:

- atividade superficial e interfacial: os biossurfactantes são mais eficientes e mais efetivos do que os surfactantes convencionais (detergentes aniônicos sulfatados) pois produzem menor tensão superficial em menores concentrações de biossurfactante<sup>14</sup>. A concentração micelar crítica (CMC) dos biossurfactantes (medida de sua eficiência) varia entre 1-2000mg/L, enquanto que a tensão interfacial (óleo/água) e superficial fica em torno de 1 e 30 mN/m respectivamente<sup>3</sup>;
- tolerância à temperatura, pH e força iônica: alguns biossurfactantes apresentam elevada estabilidade térmica e de pH podendo ser utilizados em ambientes com condições mais drásticas. O lipopeptídeo de *B. licheniformis* JF-2 é estável a temperaturas em torno de 75 °C por até 140 h e pH entre 5 e 12<sup>16</sup>. Os biossurfactantes suportam concentrações de 10% de NaCl enquanto que uma concentração salina de 2-3% é suficiente para inativar surfactantes convencionais<sup>3</sup>;
- biodegradabilidade: diferentes dos surfactantes químicos os biossurfactantes são facilmente degradáveis na água e no solo, o que os torna adequados para aplicações como biorremediação e tratamento de resíduos<sup>15</sup>;
- baixa toxicidade: os biossurfactantes têm recebido maior atenção também devido à crescente preocupação da população com os efeitos alérgicos dos produtos artificiais<sup>4</sup>; além disto, sua baixa toxicidade permite o uso em alimentos, cosméticos e produtos farmacêuticos<sup>17</sup>.

Os biossurfactantes também apresentam a vantagem de poderem ser sintetizados a partir de substratos renováveis e possuírem grande diversidade química, possibilitando aplicações específicas para cada caso particular<sup>1</sup>. Além disto, possuem características estruturais e propriedades físicas distintas, o que os torna comparáveis ou superiores aos surfactantes sintéticos em termos de eficiência<sup>18</sup>. Outra vantagem reside no fato de serem compostos que não são derivados de petróleo, fator importante à medida que os preços do petróleo aumentam. A possibilidade de modificação da estrutura química e das propriedades físicas dos biossurfactantes através de manipulações genéticas, biológicas ou químicas permite o desenvolvimento de produtos para necessidades específicas.

## APLICAÇÕES INDUSTRIAIS

O maior mercado para os biossurfactantes é a indústria petrolífera, onde são utilizados na produção de petróleo ou incorporados em formulações de óleos lubrificantes<sup>19</sup>. Outras aplicações incluem biorremediação e dispersão no derramamento de óleos, remoção e mobilização de resíduos de óleo em tanques de estocagem, e a recuperação melhorada de petróleo. Porém, atualmente, as aplicações se distribuem entre os mais diversos setores industriais.

### Biorremediação

Os acidentes com derramamento de óleo se tornaram numerosos e têm causado muitos problemas ecológicos e sociais. Como os biossurfactantes aumentam a interação superficial A/O, aceleram a degradação de vários óleos por microrganismos e promovem a biorremediação de águas e solos<sup>20</sup>. A capacidade dos biossurfactantes em emulsificar e dispersar hidrocarbonetos em água aumenta a degradação destes compostos no ambiente. Uma vez que microrganismos degradadores estão presentes em oceanos, a biodegradação constitui um dos métodos mais eficientes de remoção de poluentes; entretanto, os estudos ainda ocorrem à nível laboratorial e a biorremediação de oceanos utilizando biossurfactantes permanece

ainda como um desafio<sup>21</sup>. Os biossurfactantes podem ser usados diretamente para emulsificar e aumentar a solubilidade de contaminantes hidrofóbicos no solo. Alternativamente, podem ser utilizados microrganismos produtores ou a adição de fatores de crescimento de microrganismos selvagens capazes de produzir estes compostos<sup>22</sup>.

Alguns estudos demonstraram o aumento da biodisponibilidade de compostos aromáticos pouco solúveis como os aromáticos policíclicos (HPA) pelo uso de biossurfactantes. O tratamento de amostras contaminadas por fenantreno<sup>23</sup> e naftaleno<sup>24</sup> com biossurfactantes resultou em aumento nas suas taxas de mineralização e solubilização.

O uso de biossurfactantes na biodegradação de pesticidas vem sendo objeto de investigação. A degradação de hexaclorociclohexano por surfactante produzido por *Pseudomonas* foi relatada, sendo que outros organoclorados como DDT e ciclodienos também foram emulsificados em menor grau<sup>25</sup>. Os biossurfactantes também são úteis na biorremediação de locais contaminados com metais pesados tóxicos como urânio, cádmio e chumbo<sup>26</sup>. Surfactantes produzidos por *Arthrobacter*, *Pseudomonas*, *Corynebacterium* e *B. subtilis* demonstraram resultados promissores na remoção de piche em areias contaminadas<sup>3</sup>.

### Limpeza de reservatórios de óleos

Resíduos e frações de óleos pesados que sedimentam no fundo de tanques de estocagem são altamente viscosos e podem se tornar depósitos sólidos que não são removidos através de bombeamento convencional. A remoção requer lavagem com solventes ou limpeza manual, ambas perigosas, demoradas e caras. Um processo alternativo de limpeza é o uso de biossurfactantes que promovem a diminuição na viscosidade e a formação de emulsões O/A, facilitando o bombeamento dos resíduos e a recuperação do óleo cru após quebra da emulsão. Os sólidos resultantes carregam uma quantidade limitada de óleo residual pela ação detergente do biossurfactante, tornando o descarte destes resíduos menos problemático<sup>3</sup>. A utilização de biossurfactantes para a limpeza de tanques, em substituição aos surfactantes convencionais, promoveu a limpeza e recuperação de 90% dos hidrocarbonetos presentes no resíduo<sup>27</sup>.

### Recuperação melhorada do petróleo (MEOR)

A MEOR consiste em uma tecnologia de recuperação terciária do petróleo que utiliza microrganismos ou produtos de seu metabolismo para a recuperação de óleo residual<sup>28</sup>. Os microrganismos produzem polímeros e surfactantes que reduzem a tensão superficial óleo-rocha, reduzindo as forças capilares que impedem a movimentação do óleo através dos poros da rocha. Os biossurfactantes também auxiliam na emulsificação e na quebra dos filmes de óleo das rochas<sup>28</sup>.

O mecanismo de MEOR *in situ* deve-se provavelmente a múltiplos efeitos dos microrganismos no ambiente e no óleo. Estes efeitos incluem: formação de gás e aumento da pressão; produção de ácido e degradação da matriz calcárea; redução na viscosidade do óleo e da tensão interfacial pela produção de biossurfactantes; produção de solventes; degradação de macromoléculas do óleo, resultando em diminuição da viscosidade; bloqueio seletivo da biomassa nas zonas de alta permeabilidade<sup>29,30</sup>.

A utilização de biossurfactantes em MEOR envolve várias estratégias, como a injeção de microrganismos produtores de biossurfactantes no reservatório e subsequente propagação *in situ*; ou a injeção de nutrientes no reservatório, estimulando o crescimento de microrganismos selvagens produtores de surfactantes; ou, ainda, a produção de biossurfactantes em reatores e posterior injeção no reservató-

rio<sup>28</sup>. A última estratégia é mais cara devido à necessidade de capital para produção, purificação e introdução do biossurfactante<sup>31</sup>. As outras requerem que o reservatório contenha bactérias capazes de produzir quantidades suficientes de biossurfactantes<sup>32</sup>.

Para ser útil na MEOR *in situ* os microrganismos devem ser aptos a crescer em condições extremas, como alta temperatura, pressão, salinidade e baixa tensão de oxigênio<sup>25</sup>. Muitos microrganismos adaptados a condições extremas, com capacidade para recuperação de óleo cru têm sido isolados e estudados<sup>33</sup>.

### Aplicações terapêuticas

A surfactina, um dos mais conhecidos biossurfactantes, possui várias aplicações farmacêuticas como a inibição da formação de coágulos; formação de canais iônicos em membranas; atividade antibacteriana e antifúngica; atividade antiviral e antitumoral<sup>34,35</sup>. O biossurfactante produzido por *R. erythropolis* inibiu o vírus do herpes simples e vírus parainfluenza<sup>36</sup>.

A iturina, lipopeptídeo produzido por *B. subtilis*, demonstrou atividade antifúngica, afetando a morfologia e a estrutura da membrana celular de leveduras<sup>37</sup>. A inibição da adesão de bactérias entéricas patogênicas por biossurfactante produzido por *Lactobacillus* foi relatada. Os autores sugeriram o desenvolvimento de agentes anti-adesivos para uso em cateteres visando diminuir a formação de biofilmes<sup>38</sup>.

### Biossurfactantes na agricultura

Os biossurfactantes são usados na agricultura especialmente em formulações de herbicidas e pesticidas. Os compostos ativos destas formulações são geralmente hidrofóbicos, sendo necessários agentes emulsificantes para dispersá-los em soluções aquosas<sup>13</sup>. Surfactantes de *Bacillus* foram utilizados para emulsificar formulações de pesticidas organofosforados imiscíveis<sup>39</sup>.

Os rhamnolipídios possuem potencial para o controle biológico de fitopatógenos que produzem zoósporos<sup>40</sup>.

### Biossurfactantes na mineração

Compostos tenso-ativos produzidos por culturas de *Pseudomonas sp.* e *Alcaligenes sp.* foram utilizados para flotação e separação de calcita e eschelita. A recuperação foi de 95% para CaWO<sub>4</sub> e 30% para CaCO<sub>3</sub>, ressaltando que reagentes químicos convencionais são incapazes de separar estes dois minerais<sup>41</sup>. O biodispersan, polissacarídeo aniônico, produzido por *A. calcoaceticus* A2, foi utilizado na prevenção da floculação e dispersão de misturas de pedra calcária e água<sup>42</sup>. Biossurfactantes de *C. bombicola* demonstraram eficiência na solubilização de carvão<sup>43</sup>.

### Produtos de higiene e cosméticos

Devido a sua compatibilidade com a pele, os biossurfactantes podem ser usados em produtos de higiene e cosméticos<sup>44</sup>.

Um produto comercial que continha 1 mol de sofrorolipídios e 12 moles de propilenoglicol, apresentou excelente compatibilidade dérmica, sendo utilizado como hidratante em cremes faciais<sup>45</sup>. Alguns sofrorolipídios (Figura 1) são utilizados como umectantes para incorporação em produtos de maquiagem. A KAO Co. Ltda desenvolveu um processo fermentativo para produção de sofrorolipídios, que posteriormente sofrem esterificação, resultando em um produto com aplicação em batons e como hidratante para pele e cabelos<sup>1</sup>.

A preparação de biossurfactantes pela ação enzimática (principalmente lipases) sobre moléculas hidrofóbicas promoveu um novo

direcionamento na produção destes compostos, principalmente para utilização em produtos de higiene e cosméticos<sup>32</sup>.

### Indústria de alimentos

A emulsificação tem um papel importante na formação da consistência e textura, bem como na dispersão de fase<sup>32</sup> e na solubilização de aromas<sup>2</sup>. Os biossurfactantes são utilizados como emulsionantes no processamento de matérias-primas. Os agentes tenso-ativos encontram aplicação em panificação e produtos derivados de carne, onde influenciam as características reológicas da farinha e a emulsificação de gorduras<sup>46</sup>. O bioemulsificante produzido por *C. utilis* tem sido utilizado em molhos prontos para saladas<sup>47</sup>.

### Outras aplicações

Outros campos de utilização dos biossurfactantes incluem a indústria de papel, têxtil e cerâmica. O biodispersan tem aplicação na indústria de tintas,<sup>12</sup> pois gera maior espalhabilidade e aumenta as propriedades de mistura. As propriedades de estabilização de espuma são necessárias na fabricação de extintores de incêndio<sup>18</sup>.

A Tabela 3 mostra um resumo das funções e aplicações industriais dos biossurfactantes.

**Tabela 3.** Principais aplicações comerciais dos biossurfactantes<sup>2,32</sup>

Funções	Campos de aplicação
Emulsionantes e dispersantes	Cosméticos, tintas, biorremediação, óleos, alimentos
Solubilizantes	Produtos farmacêuticos e de higiene
Agentes molhantes e penetrantes	Produtos farmacêuticos, têxteis e tintas
Detergentes	Produtos de limpeza, agricultura
Agentes espumantes	Produtos de higiene, cosméticos e flotação de minérios
Agentes espessantes	Tintas e alimentos
Sequestrantes de metais	Mineração
Formadores de vesículas	Cosméticos e sistemas de liberação de drogas
Fator de crescimento microbiano	Tratamento de resíduos oleosos
Demulsificantes	Tratamento de resíduos, recuperação de petróleo
Redutores de viscosidade	Transporte em tubulações, oleodutos
Dispersantes	Misturas carvão-água, calcário-água
Fungicida	Controle biológico de fitopatógenos
Agente de recuperação	Recuperação terciária de petróleo (MEOR)

### CONCLUSÕES

Os biossurfactantes apresentam diversas vantagens em relação aos surfactantes sintéticos, podendo ser utilizados em uma gama de aplicações industriais; entretanto, ainda não são amplamente utilizados devido aos altos custos de produção, associados a métodos ineficientes de recuperação do produto e ao uso de substratos caros.

O problema econômico da produção de biossurfactantes pode ser significativamente reduzido através do uso de fontes alternativas de nutrientes, facilmente disponíveis e de baixo custo. Uma possível alternativa seria o uso de subprodutos agrícolas ou de processamento industrial. Com o aumento dos esforços no desenvolvimento de novas tecnologias de aplicação, no melhoramento das linhagens e dos processos de produção, e devido à sua versatilidade, biodegradabilidade e baixa toxicidade, os biossurfactantes poderão se tornar compostos de uso comum nas indústrias em um futuro próximo.

## REFERÊNCIAS

- Desai, J. D.; Banat, I. M.; *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **1997**, *61*, 47.
- Banat, I. M.; *Biofutur.* **2000**, *198*, 44.
- Bognolo, G.; *Colloids Surf., A* **1999**, *152*, 41.
- Cameotra, S. S.; Makkar, R. S.; *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **1998**, *50*, 520.
- Desai, J. D.; Desai, A. J. Em *Biosurfactants: production, properties, applications*; Kosaric, N., ed.; Marcel Decker: New York, 1993, cap. 3.
- Rosenberg, E.; Zuckerberg, A.; Rubinovitz, C.; Gutnick, D. L.; *Appl. Environ. Microbiol.* **1979**, *37*, 402.
- Cirigliano, M. C.; Carman, G. M.; *Appl. Environ. Microbiol.* **1984**, *48*, 747.
- Kappeli, O.; Finnerty, W.R.; *J. Bacteriol.* **1979**, *140*, 707.
- Francy, D. S.; Thomas, J. M.; Raymond, R. L.; Ward, C. H.; *J. Ind. Microbiol.* **1991**, *8*, 237.
- Cooper, D. G.; Macdonald, C. R.; Duff, S. J. B.; Kosaric, N.; *Appl. Environ. Microbiol.* **1981**, *42*, 408.
- Kappeli, O.; Fiechter, A.; *J. Bacteriol.* **1977**, *131*, 917.
- Rosenberg, E.; Ron, E. Z.; *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **1999**, *52*, 154.
- Lin, S. C.; *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **1996**, *66*, 109.
- Cooper, D. G.; Paddock, D. A.; *Appl. Environ. Microbiol.* **1984**, *47*, 173.
- Mulligan, C. N.; Gibbs, B. F. Em *Biosurfactants: production, properties, applications*; Kosaric, N., ed.; Marcel Decker: New York, 1993, cap.13.
- Horowitz, S.; Gilbert, J. N.; Griffin, W.M.; *J. Microbiol.* **1990**, *6*, 243.
- Flasz, A.; Rocha, C. A.; Mosquera, B.; Sajo, C.; *Med. Sci. Res.* **1998**, *26*, 181.
- Reiser, J.; Koch, A. K.; Jenny, K.; Kappeli, O. Em *Advances in Applied Biotechnology Series*; Oringer, J.W.; Tillingue, H. S., eds.; Gulf Publishing Company: London, 1989, cap. 3.
- Van Dyke, M. L.; Lee, H.; Trevors, J. T.; *Biotechnol. Adv.* **1991**, *9*, 241.
- Banat, I. M.; *Acta Biotechnol.* **1995a**, *15*, 251.
- Atlas, R. M.; *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **1991**, *52*, 149.
- Lang, S.; Wagner, F. Em *Biosurfactants: production, properties, applications*; Kosaric, N., ed.; Marcel Decker: New York, 1993, cap. 8.
- Daziel, E.; Paquette, G.; Vellemur, R.; Lepins, F.; Bisailnon, J. G.; *Appl. Environ. Microbiol.* **1996**, *62*, 1908.
- Zhang, Y.; Maier, W. J.; Miller, R.M.; *Environ. Sci. Technol.* **1997**, *31*, 2211.
- Karant, N. G. K.; Deo, P. G.; Veenanadig, N. K.; *Curr. Sci.* **1999**, *77*, 116.
- Miller, R. M.; *Environ. Health Persp.* **1995**, *103*, 59.
- Banat, I. M.; Samarah, N.; Murad, M.; Horne, R.; Banerjee, S.; *World J. Microbiol. Biotechnol.* **1991**, *7*, 80.
- Banat, I. M.; *Bioresour. Technol.* **1995**, *51*, 1.
- Jack, T. R.; *Biorecovery* **1988**, *1*, 59.
- Khire, J. M.; Khan, M. I.; *Enzyme Microb. Technol.* **1994**, *16*, 170.
- Moses, V.; *Microbiol. Sci.* **1987**, *4*, 305.
- Banat, I. M.; Makkar, R. S.; Cameotra, S. S.; *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2000**, *53*, 495.
- Jenneman, G. E.; Mcinerney, M. J.; Knapp, R. M.; Clark, J.B.; Feero, J. M.; Revus, D. E.; Menzie, D. E.; *Dev. Ind. Microbiol.* **1983**, *24*, 485.
- Arima, K.; Kakinuma, A.; Tamura, G.; *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1968**, *31*, 488.
- Peypoux, F.; Bonmatin, J. M.; Wallach, J.; *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **1999**, *51*, 553.
- Uchida, Y.; Tsuchiya, R.; Chino, M.; Hirano, J.; Tabuchi, T.; *Agric. Biol. Chem.* **1989**, *53*, 757.
- Thimon, L.; Peypoux, F.; Wallach, J.; Michel, M.G.; *FEMS Microbiol. Lett.* **1995**, *128*, 101.
- Valraeds-Martine, M.C.; Vandermei, H.C.; Reid, G.; Busscher, H.J.; *Colloids Surf., B* **1996**, *8*, 51.
- Patel, M. N.; Gopinathan, K. P.; *Appl. Environ. Microbiol.* **1986**, *52*, 1224.
- Stanguellini, M. E.; Miller, R. M.; *Plant Dis.* **1997**, *81*, 4.
- Kosaric, N.; Cairns, W. L.; Gray, N. C. C. Em *Biosurfactants and biotechnology. Surfactant science series*; Kosaric, N.; Cairns, W. L.; Gray, N. C. C., eds.; Marcel Decker: New York, 1987, cap.11.
- Rosenberg, E.; Rubinovitz, C.; Gottlieb, A.; Rosenhak, S.; Ron, Z. E.; *Appl. Environ. Microbiol.* **1988**, *54*, 317.
- Polman, J.K.; Miller, K.S.; Stoner, D.L.; Brackenridg, C.R.; *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **1994**, *61*, 11.
- Brown, M. J.; *Int. J. Cosm. Sci.* **1991**, *13*, 61.
- Yamane, T.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1987**, *64*, 1657.
- Vater, J.; *Prog. Colloid Polym. Sci.* **1986**, *72*, 12.
- Shephord, R.; Rockey, J.; Sutherland, I. W.; Roller, S. J.; *Biotechnol.* **1995**, *40*, 207.