

Biossurfactantes microbianos e aplicações ambientais: uma revisão narrativa

Microbial biosurfactants and environmental applications: a narrative review

Biosurfactantes microbianos y aplicaciones ambientales: una revisión narrativa

Recebido: 15/08/2022 | Revisado: 28/08/2022 | Aceito: 31/08/2022 | Publicado: 08/09/2022

Patrícia Suzanne da Silva Marinho

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9533-0894>

Universidade Católica de Pernambuco, Brasil

E-mail: patricia.2016110184@unicap.br

Renata Raianny da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4533-6918>

Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil

E-mail: renatabiology2015@gmail.com

Juliana Moura de Luna

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4619-6857>

Universidade Católica de Pernambuco, Brasil

E-mail: juliana.luna@unicap.br

Resumo

As indústrias petrolíferas são consideradas como os principais recursos energéticos, mas como produtoras simultaneamente de grandes quantidades de resíduos de hidrocarbonetos que são descartados em solo e na água. A contaminação por petróleo e derivados, incluindo os metais pesados, normalmente é tratada através de metodologias físicas, químicas ou biológicas. Assim, os biossurfactantes surgem como uma alternativa promissora para a remoção de petróleo e seus derivados devido à sua natureza anfipática, com porções hidrofílicas e hidrofóbicas permitindo que essas moléculas apresentem a capacidade de reduzir a tensão interfacial, de dispersar partículas de óleo, dispor de alta atividade superficial, possuir baixa toxicidade e elevada biodegradabilidade, de serem ecologicamente corretos, além de serem ativos sob condições extremas de salinidade, pH e temperatura. O presente estudo é uma revisão narrativa, que consiste em uma ampla análise da literatura. O objetivo deste trabalho é abordar o potencial de biossurfactantes microbianos em ser aplicados na biorremediação ambiental. As buscas dos artigos utilizados para compor este estudo foram realizadas em bases de dados científicos digitais, utilizando-se palavras-chave como biossurfactantes, óleo, petroderivados, biorremediação e metais pesados. Esta revisão fornece informações sobre as propriedades dos biossurfactantes, micro-organismos produtores, fatores nutricionais e a aplicação de biossurfactantes como uma alternativa favorável na remoção de petróleo e derivados, derramamento de óleo, limpeza de tubulações e de metais pesados.

Palavras-chave: Biossurfactantes; Metais Pesados; Remediação; Petróleo.

Abstract

The oil industries are considered as the main energy resources, but as producers simultaneously of large amounts of hydrocarbon residues that are discarded in soil and water. Contamination by petroleum and derivatives, including heavy metals, is normally treated through physical, chemical or biological methodologies. Thus, biosurfactants emerge as a promising alternative for the removal of oil and its derivatives due to their amphipathic nature, with hydrophilic and hydrophobic portions allowing these molecules to have the ability to reduce interfacial tension, disperse oil particles, have high surface activity, having low toxicity and high biodegradability, being ecologically correct, in addition to being active under extreme conditions of salinity, pH and temperature. The present study is a narrative review, consisting of a broad analysis of the literature. The aim of this work is to address the potential of microbial biosurfactants to be applied in environmental bioremediation. The searches for the articles used to compose this study were carried out in digital scientific databases, using keywords such as biosurfactants, oil, petroderivatives, bioremediation and heavy metals. This review provides information on the properties of biosurfactants, producing microorganisms, nutritional factors and the application of biosurfactants as a favorable alternative in the removal of oil and derivatives, oil spills, pipeline and heavy metal cleaning.

Keywords: Biosurfactants; Heavy Metals; Remediation; Petroleum.

Resumen

Las industrias petroleras son consideradas como los principales recursos energéticos, pero a la vez como productoras de grandes cantidades de residuos de hidrocarburos que son desechados en el suelo y en el agua. La contaminación por petróleo y derivados, incluidos los metales pesados, normalmente se trata mediante metodologías físicas, químicas o biológicas. Así, los biosurfactantes emergen como una alternativa promissoria para la remoción de aceite y sus

derivados devido a sua natureza anfipática, com porções hidrofílicas e hidrofóbicas que permitem que estas moléculas tenham a capacidade de reduzir a tensão interfacial, dispersar partículas de óleo, terem alta atividade superficial, baixa toxicidade e alta biodegradabilidade, sendo ecologicamente correto, além de atuar em condições extremas de salinidade, pH e temperatura. O presente estudo é uma revisão narrativa, que consiste em uma extensa revisão bibliográfica. O objetivo deste trabalho é abordar o potencial de biosurfactantes microbianos para serem aplicados na biorremediação ambiental. As buscas de artigos utilizados para compor este estudo foram realizadas em bases de dados científicas digitais, utilizando palavras-chave como biosurfactantes, petróleo, petroderivados, biorremediação e metais pesados. Esta revisão fornece informações sobre as propriedades dos biosurfactantes, os microrganismos produtores, os fatores nutricionais e a aplicação dos biosurfactantes como alternativa favorável na remoção de petróleo e derivados, derrames de petróleo, limpeza de oleodutos e metais pesados.

Palavras-chave: Biosurfactantes; Metais Pesados; Remediação; Petróleo.

1. Introdução

Os surfactantes são compostos anfifílicos, os quais possuem porções hidrofílicas e hidrofóbicas que se repartem, de preferência na interface líquida com diferentes graus de polaridade através de pontes de hidrogênio, especificamente as interfaces óleo/água ou ar/água (Ostendorf et al., 2019). A porção apolar é constituída de uma cadeia de hidrocarbonetos ao mesmo tempo em que a porção polar é iônica (catiônica ou aniônica), não-iônica ou anfotérica. Essas características conferem aos surfactantes a capacidade de reduzir a tensão superficial e interfacial, formando microemulsões, onde os hidrocarbonetos são solubilizados em água ou vice-versa (Singh et al., 2018; Jahan et al., 2020).

A importância comercial dos surfactantes torna-se evidente a partir da tendência do mercado em aumentar a produção desses compostos em decorrência da diversidade de utilizações industriais. As aplicações industriais são classificadas de acordo com seus usos: 54% como detergentes, 13% nas indústrias têxteis, de couro e de papel, 10% em processos químicos, outros 10% nas indústrias farmacêutica e de cosméticos, 3% na indústria de alimentos, 2% na agricultura e os 2% restantes em outras aplicações (Silva et al., 2022).

A grande maioria dos surfactantes disponíveis comercialmente é sintetizada a partir de derivados de petróleo. Entretanto, a preocupação ambiental entre os consumidores, combinada com novas legislações de controle do meio ambiente têm levado à procura por biosurfactantes como alternativa aos produtos existentes (Sarubbo et al., 2022).

Os compostos de origem microbiana que exibem propriedades surfactantes são denominados biosurfactantes e consistem em subprodutos metabólicos de bactérias, leveduras e fungos filamentosos (Almeida et al., 2016; Drakontis & Amin, 2020). Os biosurfactantes ou “surfactantes verdes” são menos tóxicos, mais biodegradáveis e mais estáveis sob condições ambientais adversas em comparação com surfactantes químicos. Propriedades como detergência, emulsificação, dispersão e solubilização atribuem grande versatilidade a essas biomoléculas, tornando-as uma alternativa comercial promissora (Farias et al., 2021).

Sendo assim, esta revisão integrativa visa fornecer uma visão geral das potenciais aplicações ambientais dos biosurfactantes, principalmente na biorremediação, na remoção de metais pesados, na recuperação avançada de petróleo, na limpeza de reservatórios de óleo e na dispersão de manchas de óleo. Onde as principais características da biossíntese microbiana dos biosurfactantes, suas propriedades físico-químicas e o aproveitamento de resíduos industriais se tornam alternativas promissoras para a produção dessas biomoléculas.

2. Metodologia

O presente estudo é uma revisão narrativa, que consiste em uma ampla análise da literatura. Segundo Vosgerau & Romanowski (2014), nesse tipo de estudo, são analisadas produções bibliográficas em determinadas áreas, fornecendo o estado da arte sobre temas específicos, onde é possível destacar novas ideias e metodologias.

A pesquisa transcorreu de março a maio de 2022, onde foram selecionados 76 trabalhos, abrangendo artigos que foram publicados de 2011 a 2022, nos idiomas inglês e português. Como critério de exclusão, foram removidos trabalhos que não abordavam a temática de estudo, artigos duplicados e artigos que estavam indisponíveis para download.

Para integrar esse estudo, foram utilizadas buscas por artigos através de bases de dados científicos digitais do Google Acadêmico, Science Direct, Scielo e Pubmed, onde foram selecionados e analisados artigos de pesquisa e de revisão. Os termos e palavras-chave utilizados na pesquisa foram: biossurfactantes, surfactantes microbianos, surfactantes naturais, propriedade dos biossurfactantes, biorremediação e solos contaminados.

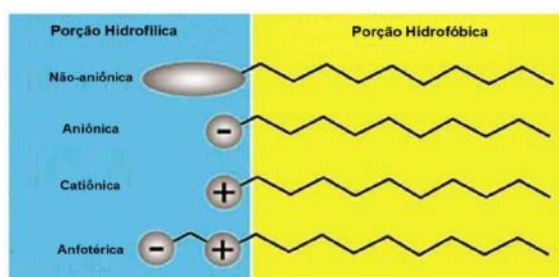
3. Resultados e Discussão

3.1 Biossurfactantes

Os biossurfactantes são compostos naturais anfipáticos, cujas estruturas moleculares possuem simultaneamente grupos hidrofílicos e hidrofóbicos. A porção apolar é frequentemente uma cadeia de hidrocarboneto, enquanto que a porção polar pode ser iônica (catiônica ou aniônica), não iônica ou anfotérica, como ilustrado na Figura 1. Praticamente todos os biossurfactantes exibem estruturas aniônicas ou não iônicas, muito embora alguns casos relatam a presença de grupos hidrofílicos contendo nitrogênio, o qual confere características catiônicas à molécula (Santos et al., 2016; Chaprão et al., 2018).

Essas características possibilitam aos biossurfactantes reduzirem a tensão superficial e interfacial e conseqüentemente formarem microemulsões, onde hidrocarbonetos solubilizam em água ou a água se solubiliza em hidrocarbonetos (Karlupudi et al., 2020). Tais propriedades propiciam um amplo espectro de potenciais aplicações industriais envolvendo emulsificação, detergência, lubrificação, umectação, formação de espuma, dispersões ou solubilização de diferentes fases (Santos et al., 2017).

Figura 1 - Estruturas gerais de biossurfactantes, de acordo com a composição de suas porções hidrófilas, sendo não iônicas, aniônicas, catiônicas ou anfotéricas.



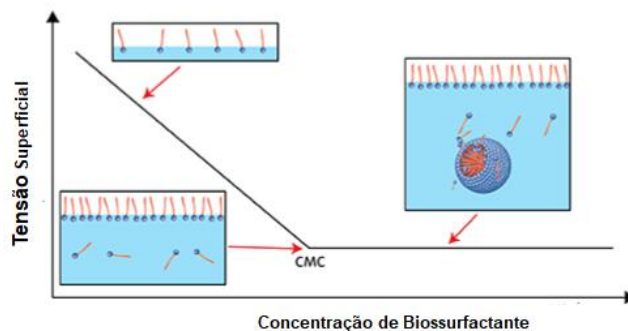
Fonte: Silva et al. (2016).

Os biossurfactantes possuem duas características principais, a tensão superficial e a capacidade de formar micelas em soluções. A tensão superficial é minimizada quando aumenta a concentração do surfactante no meio aquoso, havendo a formação de micelas, que são moléculas anfipáticas onde as partes hidrofóbicas de surfactante são posicionadas na parte interna da micela, e as e as hidrofóbicas em direção à fase aquosa (Burghoff, 2012; Haq et al., 2017).

A concentração dessas micelas forma a Concentração Micelar Crítica (CMC). Esta concentração representa à mínima concentração de biossurfactante necessária para que a tensão superficial seja reduzida ou eliminada através do aumento adicional do biossurfactante (Figura 2). Quando a CMC é atingida, várias micelas são formadas (Ahmadi-Ashtiani, 2020). Além

disso, os biossurfactantes, ao modificar a hidrofobicidade da superfície celular, aumentam a afinidade do substrato celular (Dell'anno et al., 2018).

Figura 2 - Tensão superficial em função da concentração de biossurfactante.



Fonte: Silva et al. (2022)

3.1.1 Classificação dos biossurfactantes

Os biossurfactantes são geralmente classificados de acordo com sua origem microbiana e com sua composição química (Sobrinho et al., 2013). As principais classes incluem glicolipídeos, lipopeptídeos, lipoproteínas, ácidos graxos, fosfolipídeos, surfactantes poliméricos e surfactantes particulados como ilustrados na Tabela 1. De um modo geral, os biossurfactantes contêm uma ou várias porções lipofílicas e hidrofílicas semelhantes a todas as moléculas tensoativas (Bezerra et al., 2018; Ribeiro et al., 2020). A porção lipofílica pode ser uma cadeia de um ácido graxo com 10-18 átomos de carbono ou mais; ou pode ser uma proteína ou peptídeo com uma elevada proporção de aminoácidos contendo cadeias laterais hidrofóbicas. A porção hidrofílica pode ser um éster, um grupo hidroxila, um grupo fosfato, um grupo carboxílico, um carboidrato ou um peptídeo/proteína com elevada proporção de aminoácidos de cadeias laterais hidrofílicas (Santos et al., 2016).

Tabela 1 – Principais classes de biossurfactantes e respectivos micro-organismos produtores.

| Classe/Tipo de Biossurfactante | Micro-organismos |
|--|--|
| Glicolipídeos | |
| Ramnolipídeos | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |
| Soforolipídeos | <i>Candida bombicola</i> , <i>Candida apicola</i> |
| Trehalolipídeos | <i>Rhodococcus erythropolis</i> , <i>Mycobacterium sp.</i> |
| Lipopeptídeos e lipoproteínas | |
| Peptídeo-lipídeo | <i>Bacillus licheniformis</i> |
| Viscosina | <i>Pseudomonas fluorescens</i> |
| Serrawettin | <i>Serratia marcescens</i> |
| Surfactina | <i>Bacillus subtilis</i> |
| Subtilisina | <i>Bacillus subtilis</i> |
| Gramicidina | <i>Bacillus brevis</i> |
| Polymyxin | <i>Bacillus polymyxa</i> |
| Ácidos graxos, lipídeos neutros e fosfolipídeos | |
| Ácidos graxos | <i>Corynebacterium lepus</i> |
| Lipídeos neutros | <i>Nocardia erythropolis</i> |
| Fosfolipídeos | <i>Thiobacillus thiooxidans</i> |
| Surfactantes poliméricos | |
| Emulsan | <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> |
| Biodispersan | <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> |
| Liposan | <i>Candida lipolytica</i> |
| Carboidrato-lipídeo-proteína | <i>Pseudomonas fluorescens</i> |
| Mannan-lipídeo-proteína | <i>Candida tropicalis</i> |
| Surfactante particulado | |
| Vesícula | <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> |

Fonte: Autores.

3.1.2 Propriedades

Para a avaliação de desempenho dos biossurfactantes, são empregadas algumas propriedades físico-químicas, como redução da tensão superficial, capacidade espumante, capacidade emulsificante e estabilizante, concentrações micelares críticas baixas, solubilidade e poder detergente, além disso, são essenciais na seleção de microrganismos com potencial de produção destes agentes (Karlapudi et al., 2018).

Biossurfactantes de glicolipídeos possuem diversas propriedades funcionais (emulsionantes, espumantes, molhantes, anti-adesivos e anti-biofilmes) e biológicas (atividade antibacteriana), permitindo o seu uso em indústrias alimentícias através de aditivos e conservantes. Nos últimos anos, realmente grandes avanços ocorreram tanto em relação à qualidade dos alimentos quanto à sua conservação (Mnif & Ghribi, 2016).

Por conta disso, muitas dessas características representam uma grande vantagem com relação aos surfactantes convencionais:

- Atividade superficial e interfacial: os biossurfactantes são muito mais eficientes e efetivos por promoverem menor tensão superficial em menor concentração micelar (CMC), contrapondo-se aos surfactantes convencionais. Dessa forma, a CMC dos biossurfactantes (medida de sua eficiência) varia entre 1-2000 mg/L, enquanto a tensão interfacial (óleo/água) e superficial fica em torno de 1 e 30 mN/m respectivamente (Santos et

al., 2016);

- Tolerância à temperatura, pH e força iônica: boa parte dos biossurfactantes podem ser utilizados sob condições extremas, como o obtido a partir da levedura *Candida lipolytica* UCP 0988 que apresentou estabilidade mesmo após o tratamento com temperaturas elevadas, chegando a 120 °C, atestando propriedades praticamente inalteradas a uma faixa de pH entre 2 e 12 (Santos et al., 2013);
- Os biossurfactantes suportam concentrações de NaCl de até 12 %, enquanto que uma concentração salina entre 2 – 3 % já é suficiente para tornar inativa a maioria dos surfactantes convencionais (Campos et al., 2015);
- Biodegradabilidade: os biossurfactantes são facilmente degradados por bactérias e outros microrganismos microscópicos tanto na água quanto no solo, os tornando convenientemente apropriados para aplicações na biorremediação e tratamento de resíduos (Santos et al., 2016);
- Baixa toxicidade: os biossurfactantes vêm ganhando maior notoriedade devido à crescente preocupação da sociedade em relação às reações alérgicas que os produtos artificiais vêm causando; com isso, sua baixa toxicidade permite o uso em alimentos, em cosméticos e em produtos farmacêuticos (Campos et al., 2015);
- Disponibilidade: os biossurfactantes podem ser elaborados a partir de matérias-primas largamente disponíveis, inclusive permitindo a chance de serem produzidos a partir de resíduos industriais (Santos et al., 2016);
- Especificidade: por se tratarem de moléculas orgânicas complexas com grupos funcionais bastante específicos, os biossurfactantes também terão sua especificidade em relação às suas ações. Essa propriedade confere sua importância na detoxificação de poluentes específicos em dadas aplicações, principalmente nas indústrias farmacêutica, cosmética ou mesmo alimentícia (Farias et al., 2021);
- Biocompatibilidade e digestibilidade: garantem a aplicabilidade dessas biomoléculas nos mais diversos setores industriais, com enfoque principal nas indústrias farmacêutica, cosmética e alimentícia (Silva et al., 2022).

3.1.3 Micro-organismos produtores

Uma diversidade de microrganismos, tais como bactérias, leveduras e fungos filamentosos, são capazes de elaborar biossurfactantes com diferentes estruturas moleculares (Santos et al., 2016). Dentre as principais espécies e gêneros investigados, destacam-se: *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Arthrobacter*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Candida lipolytica*, *Candida bombicola*, dentre outras (Campos et al., 2015).

Alguns microrganismos podem produzir biossurfactantes quando crescem em diferentes substratos. A utilização de diferentes fontes de carbono altera a estrutura dos biossurfactantes produzidos e suas propriedades emulsificantes. Esta transformação pode ser benéfica quando se almeja propriedades específicas para uma determinada aplicação (Sarma et al., 2019).

As bactérias são as maiores responsáveis pela produção dos biossurfactantes com relatos que datam de 1949 onde foi descoberta a existência de um novo composto biologicamente ativo produzido por *Bacillus subtilis*, o qual foi denominado surfactina, como descrito anteriormente (Silva et al., 2017). A surfactina, produzida por espécies de *Bacillus*, é considerada um dos biossurfactantes mais poderosos, pois em concentrações menores que 0,5% é capaz de reduzir eficientemente a tensão superficial.

Além do *Bacillus*, as bactérias do gênero *Pseudomonas* são descritas na literatura como grandes produtoras de biossurfactantes (Chapirão et al., 2015).

Inúmeros estudos são executados por diversos autores utilizando espécies do gênero *Candida*, incluindo *Candida sphaerica* (Luna et al., 2015; Sobrinho et al., 2013) *Candida glabrata* (Lima et al., 2017), *Candida lipolytica* (Rufino et al., 2014; Santos et al., 2013), *Candida utilis* (Campos et al., 2015), *Candida guilliermondii* (Melo Santos et al., 2018), e *Candida*

tropicalis (Das et al., 2018) onde estes são conhecidos por produzir biossurfactantes. Dentre estas, *Candida bombicola* e *Candida lipolytica* são as mais estudadas para produzir biossurfactantes (Campos et al., 2015; Silva et al., 2014).

Os glicolípídeos mais habituais em produzir este gênero são os soforolípídeos. Este biossurfactante é composto por um açúcar dissacarídeo (2'-O-β-D-glicopiranosil-1-β-D-glicopiranosose) unido por ligação β- glicosídica a um ácido graxo de cadeia longa. *Candida bombicola* destaca-se entre as leveduras mais utilizadas na produção deste biossurfactante, a qual já foi registrada valores de tensão superficial de aproximadamente 33 mN/m e altos rendimentos (Santos et al., 2016). Outro biossurfactante bastante promissor são os lípídeos de manosileritritol, que são amplamente produzidos pela levedura *Candida antarctica* a partir de óleos vegetais (Al- Bahry et al., 2013).

A levedura *Candida tropicalis* tem sido amplamente estudada por vários pesquisadores como uma potente linhagem com capacidade de biodegradar hidrocarbonetos (Almeida et al., 2017). Estudos recentes têm demonstrado que esta espécie tem a capacidade metabólica para produzir biossurfactante quando cultivada em substratos imiscíveis em água (Samal et al., 2017). Santos et al. (2017) conseguiram reduzir para 25 mN/m a tensão superficial do meio, contendo licor de milho e gordura animal utilizado como substrato para a elaboração de biossurfactante de *C. lipolytica* UCP 0988. Em outro estudo, Rufino et al. (2014), obtiveram um rendimento de 8,0 g/L de biossurfactante de *C. lipolytica* cultivada em meio também contendo óleo de soja como substrato, reduzindo a tensão superficial para 25 mN/m.

Biossurfactantes derivados de fungos filamentosos também têm sido descritos. Entre eles podem ser citados: *Rhizopus arrhizus* UCP 1607 (Pele et al., 2018), *Aspergillus sp.* RFC-1 (Al-Hawash et al., 2018), *Aspergillus ustus* MSF3 (Kiran et al., 2009), *Fusarium fujikuroi* (Reis et al., 2018) e *Penicillium 8CC2* (Sena et al., 2018).

3.2 Aplicação dos biossurfactantes na biorremediação

Acidentes como os derramamentos de petróleo podem ocorrer durante o transporte de carga ou na forma de derrames industriais de resíduos de óleo e derivados de petróleo. O petróleo é um hidrocarboneto hidrofóbico que causa uma série de efeitos negativos sobre as propriedades estruturais e funcionais das membranas celulares dos organismos vivos, proporcionando um risco considerável de contaminação tanto em ecossistemas marinhos quanto em terrestres (Kumar et al., 2020).

Quanto maior a população de microrganismos degradadores presentes, mais rápido e eficiente será o processo de biorremediação. Portanto, uma técnica que pode ser utilizada a partir da bioestimulação, ocorre através da provocação do crescimento de microrganismos presentes no local contaminado. Este processo é feito através da introdução de oxigênio, nutrientes e receptores específicos de elétrons para que haja a degradação do contaminante e substâncias, com a finalidade de corrigir o pH. Outra forma de realizar o estímulo também pode ser feita através da bioaumentação, os quais microrganismos autóctones são introduzidos no ambiente contaminado com o intuito de acelerar e completar o processo de degradação do poluente (Rivera et al., 2019).

A eficiente ação dos biossurfactantes pode ser constatada na biorremediação feita na limpeza do derramamento de 41 milhões de litros de petróleo causado pelo navio Exxon Valdez, no Golfo do Alasca, em 1989, onde foi iniciado o desenvolvimento dessa tecnologia, possibilitando bons motivos para a aplicabilidade efetiva deste método no tratamento de futuros derramamentos de óleo em circunstâncias adequadas (Souza et al., 2014).

Sendo assim, a utilização de biossurfactantes surge como alternativa de aumentar a solubilidade dos compostos hidrofóbicos, promovendo a desorção e solubilização de hidrocarbonetos e facilitando a identificação destes compostos por células microbianas (Sarubbo et al., 2022).

A adsorção na superfície do contaminante decorre na repulsão entre partículas do solo e seus principais grupos, o que resulta na liberação do poluente do solo. Já o mecanismo de solubilização, ocorre a partir da associação de contaminantes em

micelas, favorecendo sua partição na fase aquosa. Esses poluentes divididos em micelas podem ser futuramente recuperados e desemulsificados, ou mesmo eletroquimicamente destruídos ou adsorvidos em carvão ativado, em contrapartida que a solução de lavagem compreendendo o surfactante pode ser reciclada, diminuindo assim os custos de remediação (Silva et al., 2020).

Os efeitos de aplicação para a remediação de solo contaminado com óleo têm sido demonstrados em diversos trabalhos. A Surfactina é um dos tensoativos aplicados em processos de descontaminação biotecnológica, onde possui bons índices de remoção, sendo superiores a 85% utilizando biomoléculas produzidas por *B. licheniformis* e 88% com aqueles produzidos por *B. Subtilis* (Khademolhosseini et. al., 2019). Além dos biossurfactantes produzidos por espécies de *Bacillus*, *Pseudomonas* e *Candida*, outros também têm sido utilizados com êxito em solos remediados (Chaprão et al., 2018; Rabodonirina et al., 2019).

Um biossurfactante produzido por *Oceanobacillus* sp., relatado por Jadhav et al. (2013), demonstrou que sua adição aumentou a biodegradação do petróleo óleo até 90%.

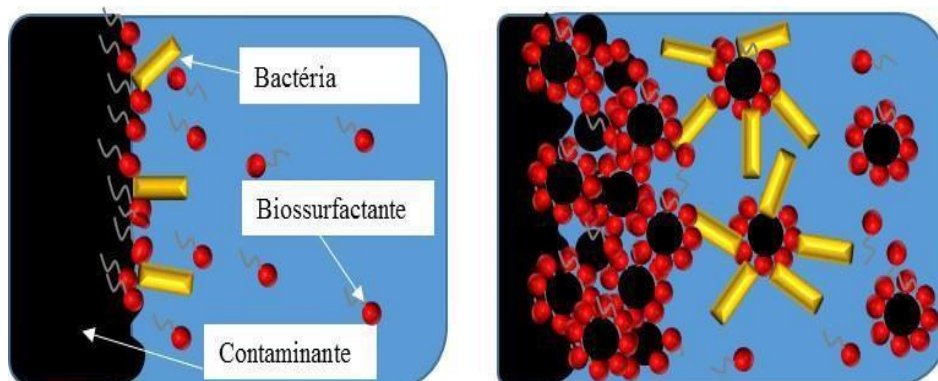
Mouafi et al. (2015) conseguiram uma dispersão positiva e emulsificação de óleo de motor em água através do biossurfactante produzido por *B. brevis*.

Hentati et al. (2021) apresentaram recentemente que o biossurfactante glicolípido de *Pseudomonas aeruginosa* foi responsável tanto pela remoção de hidrocarbonetos do solo poluído, como também o biossurfactante foi mais eficaz que os tensoativos químicos testados.

Embora existam vários estudos apresentando os biossurfactantes como uma boa alternativa para remover e/ou melhorar a degradação de contaminantes hidrofóbicos no solo, eles e seus correspondentes sintéticos, podem não obter relevância ou até mesmo atrasar a degradação através da inibição do metabolismo microbiano (Silva et al., 2020). Assim, o nível de toxicidade e as doses permitidas precisam ser consideradas previamente à aplicação dessas biomoléculas no tratamento de solos.

A biodegradação de hidrocarbonetos derivados do petróleo por biossurfactantes ocorre por dois mecanismos. O primeiro inclui o aumento da disponibilidade biológica do substrato hidrofóbico para os micro-organismos, com consequente redução da tensão superficial do meio em torno da bactéria e redução da tensão interfacial entre as moléculas da parede celular bacteriana e dos hidrocarbonetos. O outro mecanismo envolve a interação entre o biotensoativo e da superfície celular, promovendo modificações na membrana, o que facilita a adesão do hidrocarboneto (aumento de hidrofobicidade) e a redução do índice de lipopolissacarídeo da parede celular, sem danificar a membrana. Assim, os biossurfactantes bloqueiam a formação de pontes de hidrogênio e permitem as interações hidrofóbicas-hidrofílicas, as quais causam um rearranjo molecular e reduzem a tensão superficial do líquido, aumentando a sua área superficial e promovendo a biodisponibilidade e consequente biodegradabilidade (Santos et al., 2016). A Figura 3 ilustra a ação de biossurfactantes no aumento da área superficial das gotas de óleo, facilitando o acesso de um maior número de bactérias, que consequentemente produzirão maior biomassa.

Figura 3 – Imagem ilustrativa da ação de biossurfactantes sobre o petróleo.



Fonte: Santos et al. (2016).

A Tabela 2 mostra uma lista de diferentes biossurfactantes e seus micro-organismos produtores com potencial de aplicação na biorremediação de ambientes poluídos por petróleo.

Tabela 2 – Biossurfactantes, micro-organismos produtores e suas aplicações na biorremediação de ambientes contaminados com óleo.

| Micro-organismos | Tipo de biossurfactante | Aplicações |
|---------------------------------------|--------------------------------------|---|
| <i>Rhodococcus erythropolis</i> 3C-9 | Glicolípido e trealose | Operações de limpeza de derramamento de óleo |
| <i>Rhodococcus</i> sp. TW53 | Lipopeptídeo | Biorremediação da poluição marinha por óleo. |
| <i>R. wratislaviensis</i> BN38 | Glicolípido | Aplicações de biorremediação |
| <i>Bacillus subtilis</i> BS5 | Lipopeptídeo | Biorremediação de locais contaminados por hidrocarbonetos |
| <i>Azotobacter chroococcum</i> | Lipopeptídeo | Aplicações ambientais |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> BS20 | Ramnolípido | Biorremediação de locais contaminados por hidrocarbonetos |
| <i>Micrococcus luteus</i> BN56 | Tetraéster de trealose | Biorremediação de ambientes contaminados com óleo |
| <i>Nocardiopsis alba</i> MAS10 | Lipopeptídeo | Biorremediação |
| <i>Pseudoxanthomonas</i> sp. PNK-04 | Ramnolípido | Aplicações ambientais |
| <i>Nocardiopsis lucentensis</i> MAS04 | Glicolípido | Biorremediação de ambientes marinhos |
| <i>Calyptogenia soyoae</i> | Lípido de manosileritritol | Biorremediação de ambientes marinhos |
| <i>Pseudozyma hubeiensis</i> | Glicolípido | Biorremediação da poluição marinha por óleo |
| <i>Pseudomonas cepacia</i> CCT6659 | Ramnolípido | Biorremediação de ambientes marinhos e em do solo |
| <i>Candida bombicola</i> | Soforolípídeos | Aplicações ambientais |
| <i>C. lipolytica</i> UCP0988 | Soforolípídeos | Remoção de óleo em areia |
| <i>C. sphaerica</i> UCP0995 | Complexo proteico-carboidrato-lípido | Remoção de óleo em areia |
| <i>C. guilliermondii</i> UCP0992 | Complexo de glicolípido | Remoção de óleo de motor em areia |
| <i>C. tropicalis</i> UCP0996 | Complexo proteico-carboidrato-lípido | Remoção de petróleo e óleo de motor adsorvido em areia |

Fonte: A Tabela foi estruturada pelos autores a partir da compilação de diferentes artigos disponíveis na literatura.

3.3 Utilização de resíduos industriais na produção de biossurfactantes

Os biossurfactantes apresentam diversas vantagens em relação aos surfactantes sintéticos, podendo ser aplicados em uma variedade de processos industriais. Porém, do ponto de vista econômico, os biossurfactantes ainda não são capazes de competir com os surfactantes químicos, devido principalmente ao seu alto custo. Entretanto, com o aumento da preocupação ambiental, há a necessidade de desenvolvimento de biossurfactantes como alternativa aos produtos existentes (Santos et al., 2016).

A possibilidade de produção dos biossurfactantes a partir de substratos renováveis e de diferentes espécies microbianas, além da possibilidade de variação de inúmeros parâmetros culturais como tempo de cultivo, velocidade de agitação, pH do meio e nutrientes adicionados, permite a obtenção de compostos com características estruturais e propriedades físicas distintas, o que os tornam comparáveis ou superiores aos surfactantes sintéticos em termos de eficiência, embora os custos de produção ainda não permitam uma maior competitividade com os similares sintéticos (Campos et al., 2013).

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, como resíduos agroindustriais. O principal problema na utilização de resíduos em processos biotecnológicos envolve a seleção de um substrato que contenha um balanço correto de nutrientes que suportem tanto o crescimento celular quanto a produção do composto de interesse (Durán et al., 2020).

Considerando que o Brasil é um país essencialmente agrícola, a disponibilidade de quantidade e facilidade de acesso aos subprodutos agroindustriais é bastante significativa. A recuperação e concentração de biossurfactante do meio de cultura é que vão determinar a viabilidade de produção em grande escala. Geralmente a baixa concentração e a estrutura do biossurfactante limitam a extração (Sarubbo et al., 2015). Nesse sentido, é de fundamental importância o desenvolvimento de estratégias que permitam a produção e consequente aplicação dos biossurfactantes em escala industrial. Os substratos de baixo custo, a seleção de micro-organismos superprodutores e o aprimoramento dos processos de produção e purificação têm sido utilizados com essa finalidade (Almeida, 2019)

Uma possível solução seria o uso de subprodutos industriais, a exemplo, a borra residual da indústria de óleos vegetais. O glicerol, um produto obtido de muitos processos industriais, como por exemplo na produção do biodiesel, é gerado em grandes quantidades e podem ser utilizados como fonte de carbono, reduzindo os custos de produção. Adicionalmente, a manipulação da composição do meio de cultura, também pode permitir o aumento da produtividade, otimizando, desta forma, as condições de cultivo (Silva et al., 2020).

Seleção do substrato depende da escolha de um resíduo com um certo balanço de nutrientes para crescimento e produção. Os resíduos industriais com elevado teor de carboidratos e lipídios encontrados são elementos necessários para o uso como substratos para produção de biossurfactantes (Jimoh & Lin, 2019).

Neste contexto, a produção de biossurfactante por micro-organismos a partir de resíduos industriais, representa uma alternativa para a produção de biopolímeros com atividade de emulsificação, possibilitando aplicações futuras no controle da poluição causada por petróleo e derivados, em ecossistemas terrestres e aquáticos. Assim, as concentrações ideais de substratos são estabelecidas através de planejamentos fatoriais, visando minimizar os altos custos de produção. Sabe-se também que, atualmente, muitos estudos têm sido realizados na seleção de micro-organismos produtores de biossurfactantes para as indústrias alimentícias e petroquímicas (Patowary, 2017).

Na literatura, tem-se encontrado cada vez mais trabalhos com a utilização de resíduos industriais para a produção de biossurfactante. Na perspectiva industrial para a produção em larga escala é de extrema importância, pois viabiliza as grandes produções do biocomposto, além da perspectiva ambiental, como citado anteriormente, favorecendo o meio ambiente, uma vez que grandes quantidades de resíduos são impedidas de entrar em contato com o meio ambiente. A Tabela 3 mostra um levantamento da utilização de resíduos industriais para produção de biossurfactante.

Tabela 3. Resíduos industriais utilizados para produção de biossurfactante e seus respectivos micro-organismo produtor e rendimentos.

| Resíduos industriais | Micro-organismo produtor | Rendimento (g/L) | Referência |
|--|---|------------------|-------------------------|
| Glicerol bruto | <i>Bacillus sp.</i> | 2,8 | Rulli et al. (2019) |
| Águas residuais de fábrica de óleo, milhocina e melaço de cana-de-açúcar | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 112 | 5,1 | Gudiña et al. (2016) |
| Cascas de batata e bagaço de cana-de-açúcar | <i>Pseudomonas azotoformans</i> AJ15 | 1,16 | Das; Kumar (2018) |
| Óleo de soja residual e milhocina | <i>Streptomyces sp.</i> DPUA1566 | 1,9 | Santos et al. (2019) |
| Óleo de girassol residual | <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> RHNK 22 | 0,8 | Kumar et al. (2017) |
| Hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana | <i>Cutaneotrichosporon mucoides</i> UFMG-CM-Y6148 | 0,16 | Marcelino et al. (2019) |
| Resíduo de óleo vegetal e milhocina | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> UCP0992 | 26 | Silva et al. (2018) |
| Milhocina | <i>Candida lipolytica</i> UCP0988 | 40 | Santos et al. (2017) |
| Óleo de canola residual e milhocina | <i>Pseudomonas cepacia</i> CCT6659 | 8 | Silva et al. (2017) |
| Suco de maçã de caju clarificado | <i>Bacillus subtilis</i> LAMI005 | 0,31 | Oliveira et al. (2013) |

Fonte: A Tabela foi estruturada pelos autores a partir da compilação de diferentes artigos disponíveis na literatura.

3.4 Aplicação dos biossurfactantes na limpeza dos reservatórios de óleos

Algumas das aplicações industriais mais comuns para os biossurfactantes estão associadas ao petróleo e às indústrias de mineração, assim como os processos de limpeza industrial (Rocha e Silva et al., 2018).

Um grande volume de petróleo bruto é movimentado diariamente, enviado para as refinarias e adicionado em tanques de armazenamento. Porém, é requerida lavagem periódica como manutenção destes tanques (Singh et al., 2020). Entretanto, alguns resíduos e pequenas porções de óleos pesados ficam depositados na parte inferior e nas paredes dos tanques de armazenamento, e como possuem um alto teor de viscosidade, acabam se tornando depósitos sólidos, não podendo ser removidos através de um bombeamento convencional. Para que seja realizada a retirada desses resíduos, é feita uma lavagem utilizando solventes e limpeza manuais, o que passa a ser uma tarefa perigosa, demorada e de alto custo, convertendo na produção de grandes quantidades de material residual para descarte (Almeida et al., 2016).

O procedimento de limpeza de tanques de armazenamento de óleo através da utilização de biossurfactantes, é feito de forma alternativa com o objetivo de diminuir a viscosidade do óleo através da formação de emulsões óleo-em-água o que possibilita um melhor bombeamento de resíduos. Além disso, tal processo permite a restauração do óleo cru após a quebra da emulsão (Ren et al., 2020).

A partir da utilização de biossurfactantes de cepas de *B. subtilis*, Gudina et al. (2013) demonstraram uma recuperação eficaz do óleo residual presente em reservatórios explorados por grandes períodos, onde foi relatado um aumento dos índices de recuperação de 6 a 25% para óleo, 16–24% para óleo de parafina viscoso, 13–18% para óleo árabe leve e 15-17% para petróleo bruto pesado.

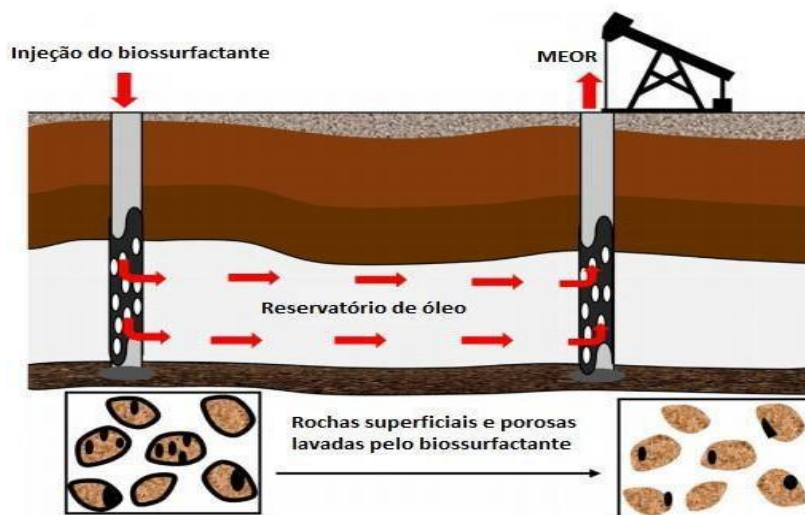
3.5 Aplicação de biossurfactantes na recuperação avançada de Petróleo (Meor- Microbial Enhanced Oil Recovery)

Existem processos variados para a recuperação avançada de óleo (EOR- Enhanced Oil Recovery) que são utilizados nas indústrias de petróleo, tais como métodos térmicos, físicos e químicos. Os surfactantes químicos são grandemente empregados nas indústrias de petróleo para vários meios, especialmente no EOR. Porém, esses métodos possuem um custo potencialmente caro e ao mesmo tempo prejudicial ao meio ambiente (Akbari et al., 2018).

Contudo, o avanço de novas técnicas para converter os produtos à base de petróleo em energias renováveis, biodegradáveis e sustentáveis são desafios atuais para a sociedade (Das et al., 2018). Os biossurfactantes detêm grandes vantagens sobre os surfactantes químicos: são biodegradáveis, possuem concentração micelar crítica mais baixa (CMC), podem ser produzidos a partir de recursos renováveis, mantêm sua atividade sob condições ambientais adversas e toxicidade reduzida (Geetha et al., 2018; Ren et al., 2020).

Tais compostos com origem microbiana têm a capacidade de emulsionar o petróleo bruto para reduzir sua viscosidade, tornando-o mais acessível em operações aprimoradas de recuperação de petróleo, sem que perca suas propriedades físico-químicas em temperaturas extremas, pH e salinidade (Figura 4). O uso de microrganismos para Recuperação Avançada de Óleo (EOR) é compreendido como recuperação de óleo aprimorada microbiana (MEOR) (Das et al., 2018).

Figura 4 -Aplicação de biossurfactantes na recuperação avançada de petróleo.



Fonte: Santos et al. (2016).

O potencial de aplicação para a remediação de solo contaminado com óleo tem sido demonstrado em diversos estudos. Álvarez et al. (2015) fizeram simulações de MEOR juntamente com o biossurfactante produzido por *B. amyloliquefaciens*, conseguindo uma taxa de recuperação de hidrocarbonetos acima de 90%.

O Ramnolipídio foi produzido por *P. aeruginosa* gerou uma taxa de recuperação de 50,45% dos óleos de peso médio, representando uma melhoria de 11,91% por meio da presença do óleo microorganismo, que teve um melhor índice de recuperação do que a alcançada com os tensoativos sintéticos verificados no estudo (Camara et al., 2019).

3.6 Aplicação de biossurfactantes na dispersão de manchas de petróleo

Um dos procedimentos para a remediação de derramamentos de óleo é o uso de dispersantes de manchas de óleo. Os dispersantes usados para isso são compostos de misturas complexas de surfactantes, solventes e aditivos responsáveis por

umentar a taxa de dispersão natural do óleo, assim como a sua remoção da superfície contaminada (Perfumo et al., 2018). A Figura 5 ilustra a ação do biossurfactante como agente dispersante.

Figura 5 - Capacidade de dispersão do óleo de motor por um biossurfactante formulado.



Fonte: Sarubbo et al. (2015).

3.7 Aplicação de biossurfactantes na mineração

Os metais ocorrem em diferentes formas na natureza: como íons dissolvidos em água, vapor, ou sais minerais em rochas, areia e solo, como também podem estar ligados a moléculas orgânicas e inorgânicas ou unidos por partículas no ar. Esses processos naturais e antropogênicos liberam metais na atmosfera e na água (Rahman & Singh, 2020).

A presença de metais pesados nos solos provoca sérios problemas, uma vez que os mesmos não podem ser degradados, levando à contaminação dos sistemas biológicos e do subsolo pelo processo de lixiviação. Para a remoção adequada dos metais em um ambiente contaminado, é necessário um bom agente complexante metálico, possuindo propriedades de solubilidade, estabilidade ambiental e bom potencial de complexação para metais. Os biossurfactantes são agentes complexantes de metais que têm sido relatados como eficazes na remediação de ambientes contaminados com metais pesados (Shami, Shojaei & Khoshdast, 2019)

Biossurfactantes produzidos por amostras de *Pseudomonas* sp. e *Alcaligenes* sp. foram utilizados para flotação e separação de formação de minerais de calcita, alcançando percentuais de recuperação em torno de 95% para CaWO_4 (tungstato de cálcio) e de 30% para CaCO_3 , (Carbonato de cálcio) respectivamente, ressaltando que reagentes químicos convencionais são incapazes de separar estes dois minerais (Silva et al., 2022).

O biodispersante, um polissacarídeo aniônico produzido por *A. calcoaceticus*, foi avaliado na prevenção da floculação e dispersão de misturas de pedra calcária e água. Já os biossurfactantes de *C. bombicola* demonstraram eficiência na solubilização de carvão (Sarubbo et al., 2015).

O potencial dos biossurfactantes na mobilização e na descontaminação de solos contaminados com metais pesados foi confirmada por Juwarkar et al. (2008), que utilizaram o di-raminolípídeo biossurfactante produzido por *Pseudomonas aeruginosa* BS2 para a mobilização de metais a partir de um solo contaminado por vários metais pesados.

Gnanamani et al. (2010) estudaram a biorremediação de cromo (VI) por um isolado de *Bacillus* sp. MTCC 5514 produtor de biossurfactante.

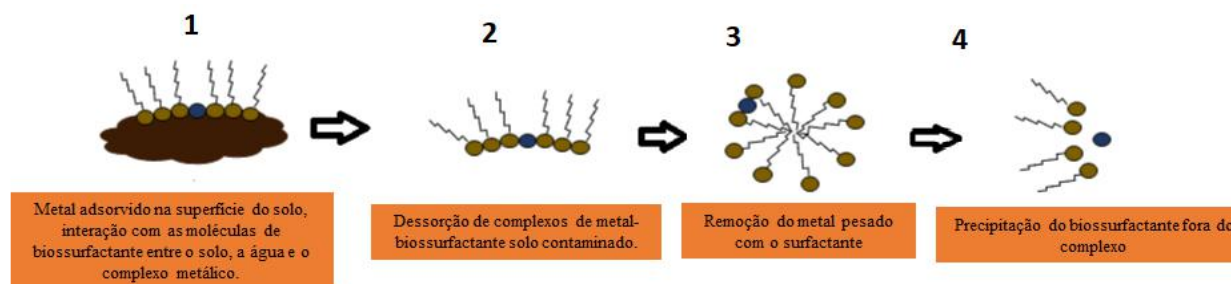
Slizovskiy et al. (2011) estudaram a remediação de solos contaminados por metais pesados reforçada por um surfactante catiônico (DPC), não iônico A (mmonyxKP surfactante) e por um biossurfactante iônico (JBR-425). Verificou-se que o JBR-425 teve o melhor efeito de eluição para Zn (39%), Cu (56%), Pb (68%), e Cd (43%).

Biossurfactantes produzidos por espécies de *Candida* também têm sido aplicados com sucesso na flotação de metais pesados, sendo capazes de remover mais de 90% dos cátions em colunas e em processos de Flotação por Ar Dissolvido (Albuquerque et al., 2012).

Luna et al. (2016) obtiveram em seus resultados taxas de remoção de 95, 90 e 79% para Fe, Zn e Pb, respectivamente com o biossurfactante produzido por *C. sphaerica* para remoção de poluentes orgânicos. Outros micro-organismos como *Bacillus* e *Pseudomonas* sp. têm sido amplamente utilizados para a remoção de metais pesados de efluentes e solo devido às suas altas afinidades de ligação a metais, esses microrganismos podem absorver uma quantidade substancial de íons de metais pesados, resultando na transferência de metais para uma matriz de biomassa contaminada (Jacob et al., 2018).

Comparado com surfactantes químicos, os biossurfactantes derivados de microrganismos apresentam um melhor desempenho, considerado adequado na remoção de metais pesados de solo contaminado (Tang et al., 2017; Luna et al., 2016). Há três etapas principais envolvidas na remoção de metais pesados do solo através da lavagem com solução de biossurfactante. Os metais pesados adsorvidos na superfície das partículas do solo se separam pela sorção de moléculas de biossurfactantes nas interfaces entre o solo úmido e o metal em solução aquosa. Posteriormente, o metal é adsorvido por biossurfactantes e preso dentro da micela através de interações eletrostáticas. Por fim, o biossurfactante pode ser recuperado através do processo de separação por membranas de acordo com a Figura 6 (Guan et al., 2017).

Figura 6 - Mecanismo de remoção de metais pesados de solo contaminado usando biossurfactantes.



Fonte: adaptado de Silva et al. (2022)

4. Conclusão

Esta revisão consiste em oferecer informações sobre as propriedades e aplicabilidade dos biossurfactantes como uma alternativa bastante viável na biorremediação, na limpeza de reservatórios de óleos, na recuperação avançada de petróleo (MEOR), na dispersão de manchas de óleo e na remoção de metais pesados. Sendo assim, os biossurfactantes são biomoléculas multifuncionais, pois apresentam propriedades físico-químicas diferenciadas, possibilitando seu emprego em diversas áreas. Além disso, devido à alta biodegradabilidade e baixa toxicidade, são adequados para substituir os tensoativos sintéticos. No futuro, devido as melhorias nas condições de produção, a evolução nos processos na recuperação de petroderivados e a descoberta de novas linhagens microbianas podem permitir o uso de biossurfactantes em larga escala, reduzindo custos e otimizando os processos. Portanto, as diversas aplicabilidades, a versatilidade e a efetividade só ratificam que os biossurfactantes são compostos eficazes e promissores na redução da poluição ambiental.

Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio da Universidade Católica de Pernambuco, Fundação de Amparo a Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Finanças 001.

Referências

- Al-Hawash, A. B., Dragh, M. A., Li, S., Alhujaily, A., Abbood, H. A., Zhang, X., & Ma, F. (2018). Principles of microbial degradation of petroleum hydrocarbons in the environment. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, 44(2), 71-76.
- Al-Bahry, S. N., Al-Wahaibi, Y. M., Elshafie, A. E., Al-Bemani, A. S., Joshi, S. J., Al-Makhmari, H. S., & Al-Sulaimani, H. S. (2013). Biosurfactant production by *Bacillus subtilis* B20 using date molasses and its possible application in enhanced oil recovery. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 81, 141-146.
- Alvarez, V. M., Jurelevicius, D., Marques, J. M., de Souza, P. M., de Araújo, L. V., Barros, T. G., ... & Seldin, L. (2015). *Bacillus amyloliquefaciens* TSBSO 3.8, a biosurfactant-producing strain with biotechnological potential for microbial enhanced oil recovery. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 136, 14-21.
- Almeida, D. G., Soares Da Silva, R. D. C. F., Luna, J. M., Rufino, R. D., Santos, V. A., Banat, I. M., & Sarubbo, L. A. (2016). Biosurfactants: promising molecules for petroleum biotechnology advances. *Frontiers in microbiology*, 7, 1718.
- Almeida, F. C. G., Silva, T. A. D. L., Garrard, I., Asfora, L., Sarubbo, G. M. D. C. T., & Tambourgi, E. B. (2015). Optimization and evaluation of biosurfactant produced by *Pantoea* sp. using pineapple peel residue, vegetable fat and corn steep liquor. *J. Chem. Chem. Eng*, 9(2015), 269-279.
- Almeida, D. G., Brasileiro, P. P. F., Soares da Silva, R. D. C. F., Rufino, R. D., de Luna, J. M., & Sarubbo, L. A. (2019). Production, formulation and cost estimation of a commercial biosurfactant. *Biodegradation*, 30(4), 191-201.
- Albuquerque, C. F., Luna-Finkler, C. L., Rufino, R. D., Luna, J. M., de Menezes, C. T., Santos, V. A., & Sarubbo, L. A. (2012). Evaluation of biosurfactants for removal of heavy metal ions from aqueous effluent using flotation techniques. *International Review of Chemical Engineering*, 4(2), 156-161.
- Ahmadi-Ashtiani, H. R., Baldissarotto, A., Cesa, E., Manfredini, S., Sedghi Zadeh, H., Ghafari Gorab, M., ... & Vertuani, S. (2020). Microbial biosurfactants as key multifunctional ingredients for sustainable cosmetics. *Cosmetics*, 7(2), 46.
- Akbari, S., Abdurahman, N. H., Yunus, R. M., Fayaz, F., & Alara, O. R. (2018). Biosurfactants a new frontier for social and environmental safety: a mini review. *Biotechnol Res Innov* 2 (1): 81-90.
- Bezerra, K. G. O., Rufino, R. D., Luna, J. M., & Sarubbo, L. A. (2018). Saponins and microbial biosurfactants: potential raw materials for the formulation of cosmetics. *Biotechnology progress*, 34(6), 1482-1493.
- Burghoff, B. (2012). Foam fractionation applications. *Journal of Biotechnology*, 161(2), 126-137.
- Camara, J. M. D. D. A., Sousa, M. A. D. S. B., Barros Neto, E. L. D., & Oliveira, M. C. A. D. (2019). Evaluation of the purification process in rhamnolipid biosurfactant for application in microbial-enhanced oil recovery (MEOR).
- Campos, J. M., Montenegro Stamford, T. L., Sarubbo, L. A., de Luna, J. M., Rufino, R. D., & Banat, I. M. (2013). Microbial biosurfactants as additives for food industries. *Biotechnology progress*, 29(5), 1097-1108.
- Campos, J. M., Stamford, T. L., Rufino, R. D., Luna, J. M., Stamford, T. C. M., & Sarubbo, L. A. (2015). Formulation of mayonnaise with the addition of a bioemulsifier isolated from *Candida utilis*. *Toxicology Reports*, 2, 1164-1170.
- Chaprão, M. J., Ferreira, I. N., Correa, P. F., Rufino, R. D., Luna, J. M., Silva, E. J., & Sarubbo, L. A. (2015). Application of bacterial and yeast biosurfactants for enhanced removal and biodegradation of motor oil from contaminated sand. *Electronic Journal of Biotechnology*, 18(6), 471-479.
- Chaprão, M. J., Rufino, R. D., Luna, J. M., Santos, V. A., & Sarubbo, L. A. (2018). Formulation and application of a biosurfactant from *Bacillus methylotrophicus* as collector in the flotation of oily water in industrial environment. *Journal of biotechnology*, 285, 15-22.
- Das, M. D. (2018). Application of biosurfactant produced by an adaptive strain of *C. tropicalis* MTCC230 in microbial enhanced oil recovery (MEOR) and removal of motor oil from contaminated sand and water. *Journal of Petroleum Science and Engineering*, 170, 40-48.
- Drakontis, C. E., & Amin, S. (2020). Biosurfactants: Formulations, properties, and applications. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 48, 77-90.
- Dell'Anno, F., Sansone, C., Ianora, A., & Dell'Anno, A. (2018). Biosurfactant-induced remediation of contaminated marine sediments: Current knowledge and future perspectives. *Marine environmental research*, 137, 196-205.
- Durán, S.M., Porras-Reyes, L., & Schmidt-Durán, A. (2020). Evaluation of agro-industrial residues produced in Costa Rica for a low-cost culture medium using *Bacillus subtilis* 168. *Revista Tecnología en Marcha*, 33(4), 15-25.
- Farias, C. B. B., Almeida, F. C., Silva, I. A., Souza, T. C., Meira, H. M., Rita de Cássia, F., ... & Sarubbo, L. A. (2021). Production of green surfactants: Market prospects. *Electronic Journal of Biotechnology*, 51, 28-39.
- Geetha, S. J., Banat, I. M., & Joshi, S. J. (2018). Biosurfactants: Production and potential applications in microbial enhanced oil recovery (MEOR). *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 14, 23-32.
- Gudina, E. J., Pereira, J. F., Costa, R., Coutinho, J. A., Teixeira, J. A., & Rodrigues, L. R. (2013). Biosurfactant-producing and oil-degrading *Bacillus subtilis* strains enhance oil recovery in laboratory sand-pack columns. *Journal of hazardous materials*, 261, 106-113.
- Gudiña, E. J., Rodrigues, A. I., de Freitas, V., Azevedo, Z., Teixeira, J. A., & Rodrigues, L. R. (2016). Valorization of agro-industrial wastes towards the production of rhamnolipids. *Bioresource technology*, 212, 144-150.
- Guan, R., Yuan, X., Wu, Z., Wang, H., Jiang, L., Li, Y., & Zeng, G. (2017). Functionality of surfactants in waste-activated sludge treatment: a review. *Science of the Total Environment*, 609, 1433-1442.

- Gnanamani, A., Kavitha, V., Radhakrishnan, N., Rajakumar, G. S., Sekaran, G., & Mandal, A. B. (2010). Microbial products (biosurfactant and extracellular chromate reductase) of marine microorganism are the potential agents reduce the oxidative stress induced by toxic heavy metals. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 79(2), 334-339.
- Haq, Z. U., Rehman, N., Ali, F., Khan, N. M., & Ullah, H. (2017). Physico-chemical properties of cationic surfactant cetyltrimethylammonium bromide in the presence of electrolyte. *J. Mater. Environ. Sci.*, 8(3), 1029-1038.
- Hentati, D., Chebbi, A., Mahmoudi, A., Hadrich, F., Cheffi, M., Frikha, I., ... & Chamkha, M. (2021). Biodegradation of hydrocarbons and biosurfactants production by a newly halotolerant *Pseudomonas* sp. strain isolated from contaminated seawater. *Biochemical Engineering Journal*, 166, 107861.
- Jacob, J. M., Karthik, C., Saratale, R. G., Kumar, S. S., Prabakar, D., Kadirvelu, K., & Pugazhendhi, A. (2018). Biological approaches to tackle heavy metal pollution: a survey of literature. *Journal of environmental management*, 217, 56-70.
- Jadhav, V. V., Yadav, A., Shouche, Y. S., Aphale, S., Moghe, A., Pillai, S., ... & Bhadekar, R. K. (2013). Studies on biosurfactant from *Oceanobacillus* sp. BRI 10 isolated from Antarctic sea water. *Desalination*, 318, 64-71.
- Jahan, R., Bodratti, A. M., Tsianou, M., & Alexandridis, P. (2020). Biosurfactants, natural alternatives to synthetic surfactants: Physicochemical properties and applications. *Advances in colloid and interface science*, 275, 102061.
- Jimoh, A. A., & Lin, J. (2019). Biosurfactant: A new frontier for greener technology and environmental sustainability. *Ecotoxicology and Environmental safety*, 184, 109607.
- Juwarkar, A. A., Dubey, K. V., Nair, A., & Singh, S. K. (2008). Bioremediation of multi-metal contaminated soil using biosurfactant—a novel approach. *Indian journal of microbiology*, 48(1), 142-146.
- Karlapudi, A. P., Venkateswarulu, T. C., Srirama, K., Kota, R. K., Mikkili, I., & Kodali, V. P. (2020). Evaluation of anti-cancer, anti-microbial and anti-biofilm potential of biosurfactant extracted from an *Acinetobacter* M6 strain. *Journal of King Saud University-Science*, 32(1), 223-227.
- Khademolhosseini, R., Jafari, A., Mousavi, S. M., Hajfarajollah, H., Noghabi, K. A., & Manteghian, M. (2019). Physicochemical characterization and optimization of glycolipid biosurfactant production by a native strain of *Pseudomonas aeruginosa* HAK01 and its performance evaluation for the MEOR process. *RSC advances*, 9(14), 7932-7947.
- Kiran, G. S., Hema, T. A., Gandhimathi, R., Selvin, J., Thomas, T. A., Ravji, T. R., & Natarajaseenivasan, K. (2009). Optimization and production of a biosurfactant from the sponge-associated marine fungus *Aspergillus ustus* MSF3. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 73(2), 250-256.
- Kumar, P. N., Swapna, T. H., Khan, M. Y., Reddy, G., & Hameeda, B. (2017). Statistical optimization of antifungal iturin A production from *Bacillus amyloliquefaciens* RHNK22 using agro-industrial wastes. *Saudi journal of biological sciences*, 24(7), 1722-1740.
- Kumar, P. S., & Ngueagni, P. T. (2020). A review on new aspects of lipopeptide biosurfactant: Types, production, properties and its application in the bioremediation process. *Journal of Hazardous Materials*, 407, 124827.
- Lima, R. A., Andrade, R. F., Rodr guez, D. M., Ara jo, H. W., Santos, V. P., & Campos-Takaki, G. M. (2017). Production and characterization of biosurfactant isolated from *Candida glabrata* using renewable substrates. *African journal of microbiology research*, 11(6), 237-244.
- Luna, J. M., Rufino, R. D., Jara, A. M. A., Brasileiro, P. P., & Sarubbo, L. A. (2015). Environmental applications of the biosurfactant produced by *Candida sphaerica* cultivated in low-cost substrates. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 480, 413-418.
- Luna, J. M., Rufino, R. D., & Sarubbo, L. A. (2016). Biosurfactant from *Candida sphaerica* UCP0995 exhibiting heavy metal remediation properties. *Process Safety and Environmental Protection*, 102, 558-566.
- Marcelino, P. R. F., Peres, G. F. D., Ter n-Hilares, R., Pagnocca, F. C., Rosa, C. A., Lacerda, T. M., ... & Da Silva, S. S. (2019). Biosurfactants production by yeasts using sugarcane bagasse hemicellulosic hydrolysate as new sustainable alternative for lignocellulosic biorefineries. *Industrial Crops and Products*, 129, 212-223.
- Melo Santos, S. F., Melo, A. L. M., de Oliveira Lima, A., Pereira, L. M. S., Santos, F. A., Medeiros, N. M., & Silva, M. G. B. (2018). Avalia o da produ o de biosurfactante a partir de diferentes fontes de carbono por *Candida guilliermondii*. *Revista Saude & Cienc a Online*, 7(2), 413-425.
- Mnif, I., & Ghribi, D. (2016). Glycolipid biosurfactants: main properties and potential applications in agriculture and food industry. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(13), 4310-4320.
- Mouafi, F. E., Elsoud, M. M. A., & Moharam, M. E. (2015). Optimization of biosurfactant production by *Bacillus brevis* using response surface methodology. *Biotechnology Reports*, 9, 31-37.
- Oliveira, J. G. D., & Garcia-Cruz, C. H. (2013). Properties of a biosurfactant produced by *Bacillus pumilus* using vinasse and waste frying oil as alternative carbon sources. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 56, 155-160.
- Ostendorf, T. A., Silva, I. A., Converti, A., & Sarubbo, L. A. (2019). Production and formulation of a new low-cost biosurfactant to remediate oil-contaminated seawater. *Journal of biotechnology*, 295, 71-79.
- Patowary, K., Patowary, R., Kalita, M. C., & Deka, S. (2017). Characterization of biosurfactant produced during degradation of hydrocarbons using crude oil as sole source of carbon. *Frontiers in microbiology*, 8, 279.
- Perfumo, A., Banat, I. M., & Marchant, R. (2018). Going green and cold: biosurfactants from low-temperature environments to biotechnology applications. *Trends in biotechnology*, 36(3), 277-289.

- Pele, M. A., Ribeaux, D. R., Vieira, E. R., Souza, A. F., Luna, M. A., Rodríguez, D. M. & Campos-Takaki, G. M. (2018). Conversion of renewable substrates for biosurfactant production by *Rhizopus arrhizus* UCP 1607 and enhancing the removal of diesel oil from marine soil. *Electronic Journal of Biotechnology*, 38, 40-48.
- Rabodonirina, S., Rasolomampianina, R., Krier, F., Drider, D., Merhaby, D., Net, S., & Ouddane, B. (2019). Degradation of fluorene and phenanthrene in PAHs-contaminated soil using *Pseudomonas* and *Bacillus* strains isolated from oil spill sites. *Journal of environmental management*, 232, 1-7.
- Rahman, Z., & Singh, V. P. (2020). Bioremediation of toxic heavy metals (THMs) contaminated sites: concepts, applications and challenges. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(22), 27563-27581.
- Ren, H., Zhou, S., Wang, B., Peng, L., & Li, X. (2020). Treatment mechanism of sludge containing highly viscous heavy oil using biosurfactant. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 585, 124117.
- Reis, C. B. L. D., Morandini, L. M. B., Bevilacqua, C. B., Bublitz, F., Ugalde, G., Mazutti, M. A., & Jacques, R. J. S. (2018). First report of the production of a potent biosurfactant with α , β -trehalose by *Fusarium fujikuroi* under optimized conditions of submerged fermentation. *Brazilian journal of microbiology*, 49, 185-192.
- Ribeiro, B. G., Guerra, J. M., & Sarubbo, L. A. (2020). Biosurfactants: Production and application prospects in the food industry. *Biotechnology Progress*, 36(5), e3030.
- Rivera, Á.D., Martínez Urbina, M. Á., & López y López, V. E. (2019). Advances on research in the use of agro-industrial waste in biosurfactant production. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 35(10), 1-18.
- Rocha e Silva, N. M. P., Meira, H. M., Almeida, F. C. G., Soares da Silva, R. D. C. F., Almeida, D. G., Luna, J. M., ... & Sarubbo, L. A. (2018). Natural surfactants and their applications for heavy oil removal in industry. *Separation & Purification Reviews*, 48(4), 267-281.
- Rufino, R.D., Moura de Luna, J., de Campos Takaki, G. M., & Asfora Sarubbo, L. (2014). Characterization and properties of the biosurfactant produced by *Candida lipolytica* UCP 0988. *Electronic Journal of Biotechnology*, 17(1), 6-6.
- Rulli, M. M., Alvarez, A., Fuentes, M. S., & Colin, V. L. (2019). Production of a microbial emulsifier with biotechnological potential for environmental applications. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 174, 459-466.
- Samal, K., Das, C., & Mohanty, K. (2017). Application of saponin biosurfactant and its recovery in the MEUF process for removal of methyl violet from wastewater. *Journal of environmental management*, 203, 8-16.
- Santos, D. K., Rufino, R. D., Luna, J. M., Santos, V. A., Salgueiro, A. A., & Sarubbo, L. A. (2013). Synthesis and evaluation of biosurfactant produced by *Candida lipolytica* using animal fat and corn steep liquor. *Journal of Petroleum Science and Engineering*, 105, 43-50.
- Santos, D. K. F., Rufino, R. D., Luna, J. M., Santos, V. A., & Sarubbo, L. A. (2016). Biosurfactants: multifunctional biomolecules of the 21st century. *International journal of molecular sciences*, 17(3), 401.
- Santos, A. P. P., Silva, M. D. D. S., & Costa, E. V. L. (2016). Biosurfactantes: uma alternativa para o mercado industrial. *Fronteiras: Journal of Social, Technological and Environmental Science*, 5(1), 88-103.
- Santos, D. K., Resende, A. H., de Almeida, D. G., Soares da Silva, R. D. C. F., Rufino, R. D., Luna, J. M., ... & Sarubbo, L. A. (2017). *Candida lipolytica* UCP0988 biosurfactant: potential as a bioremediation agent and in formulating a commercial related product. *Frontiers in Microbiology*, 8, 767.
- Santos, E. F., Teixeira, M. F. S., Converti, A., Porto, A. L. F., & Sarubbo, L. A. (2019). Production of a new lipoprotein biosurfactant by *Streptomyces* sp. DPUA1566 isolated from lichens collected in the Brazilian Amazon using agroindustry wastes. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 17, 142-150.
- Santos, E.M.S, Alvares da Silva Lira, I. R., Moraes Meira, H., dos Santos Aguiar, J., Diniz Rufino, R., Germano de Almeida, D., ... & Moura de Luna, J. (2021). Enhanced oil removal by a non-toxic biosurfactant formulation. *Energies*, 14(2), 467.
- Sarma, H., Bustamante, K. L. T., & Prasad, M. N. V. (2019). Biosurfactants for oil recovery from refinery sludge: Magnetic nanoparticles assisted purification. In *Industrial and Municipal Sludge* (pp. 107-132). Butterworth-Heinemann.
- Sarubbo, L. A., Rocha Jr, R. B., Luna, J. M., Rufino, R. D., Santos, V. A., & Banat, I. M. (2015). Some aspects of heavy metals contamination remediation and role of biosurfactants. *Chemistry and Ecology*, 31(8), 707-723.
- Sarubbo, L. A., Maria da Gloria, C. S., Durval, I. J. B., Bezerra, K. G. O., Ribeiro, B. G., Silva, I. A., ... & Banat, I. M. (2022). Biosurfactants: Production, properties, applications, trends, and general perspectives. *Biochemical Engineering Journal*, 108377.
- Sena, H. H., Sanches, M. A., Rocha, D. F. S., Segundo Filho, W. O. P., de Souza, É. S., & de Souza, J. V. B. (2018). Production of biosurfactants by soil fungi isolated from the Amazon forest. *International journal of microbiology*, 2018.
- Silva, R. R., da Silva, Y. A., e Silva, T. A. D. L., Sarubbo, L. A., & de Luna, J. M. (2022). Recent advances in environmental biotechnology: role of biosurfactants in remediation of heavy metals. *Research, Society and Development*, 11(5), e4411527453-e4411527453.
- Silva, E. J., Correa, P. F., Almeida, D. G., Luna, J. M., Rufino, R. D., & Sarubbo, L. A. (2018). Recovery of contaminated marine environments by biosurfactant-enhanced bioremediation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 172, 127-135.
- Silva, R. D. C. F., Almeida, D. G., Rufino, R. D., Luna, J. M., Santos, V. A., & Sarubbo, L. A. (2014). Applications of biosurfactants in the petroleum industry and the remediation of oil spills. *International journal of molecular sciences*, 15(7), 12523-12542.
- Silva, I. G. S., Gomes de Almeida, F. C., Padilha da Rocha e Silva, N. M., Casazza, A. A., Converti, A., & Asfora Sarubbo, L. (2020). Soil bioremediation: Overview of technologies and trends. *Energies*, 13(18), 4664.

- Singh, R., Glick, B. R., & Rathore, D. (2018). Biosurfactants as a biological tool to increase micronutrient availability in soil: A review. *Pedosphere*, 28(2), 170-189.
- Singh, S., Kumar, V., Singh, S., Dhanjal, D. S., Datta, S., Sharma, D., ... & Singh, J. (2020). Biosurfactant-based bioremediation. In *Bioremediation of pollutants* (pp. 333-358). Elsevier.
- Shami, R. B., Shojaei, V., & Khoshdast, H. (2019). Efficient cadmium removal from aqueous solutions using a sample coal waste activated by rhamnolipid biosurfactant. *Journal of environmental management*, 231, 1182-1192.
- Slizovskiy, I. B., Kelsey, J. W., & Hatzinger, P. B. (2011). Surfactant-facilitated remediation of metal-contaminated soils: efficacy and toxicological consequences to earthworms. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 30(1), 112-123.
- Sobrinho, H. B., Luna, J. M., Rufino, R. D., Porto, A. L. F., & Sarubbo, L. A. (2013). Biosurfactants: classification, properties and environmental applications. *Recent developments in biotechnology*, 11(14), 1-29.
- Souza, E. C., Vessoni-Penna, T. C., & de Souza Oliveira, R. P. (2014). Biosurfactant-enhanced hydrocarbon bioremediation: An overview. *International biodeterioration & biodegradation*, 89, 88-94.
- Tang, J., He, J., Liu, T., & Xin, X. (2017). Removal of heavy metals with sequential sludge washing techniques using saponin: optimization conditions, kinetics, removal effectiveness, binding intensity, mobility and mechanism. *RSC advances*, 7(53), 33385-33401.
- Vosgerau, D. S. A. R., & Romanowski, J. P. (2014). Estudos de revisão: implicações conceituais e metodológicas. *Revista diálogo educacional*, 14(41), 165-189.