Surfactantes biológicos con aplicación potencial en tecnología de alimentos: una revisión

Alejandro de Jesús Cortés-Sánchez^{1✉}, Ivonne Guadalupe Troconis-Torres²,
María Eugenia Jaramillo-Flores²

¹ Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey, Escuela de Ingeniería en Industrias Alimentarias, Biotecnología y Agronomía. Av. Epigmenio González, N° 500, Fracc. San Pablo, C. P. 76130, Querétaro, Querétaro, México.

² Instituto Politécnico Nacional, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Prolongación de Carpio y Plan de Ayala, s/n, Col. Santo Tomás, C.P. 11340, Delegación Miguel Hidalgo, México, D. F., México.

Resumen

Los surfactantes biológicos, comúnmente llamados “biosurfactantes” son metabolitos secundarios de naturaleza anfipática producidos por una variedad de microorganismos (bacterias, hongos y levaduras). Estos compuestos presentan propiedades de actividad de superficie, es decir, son capaces de reducir la tensión superficial e interfacial permitiendo la formación y estabilización de sistemas heterogéneos como las emulsiones. Además, los biosurfactantes han mostrado ciertas ventajas sobre sus homólogos de origen sintético, altamente contaminantes, como son su biodegradabilidad, baja toxicidad, selectividad a condiciones extremas de pH, temperatura y salinidad, así como algunas actividades biológicas (antimicrobiana, anti adhesiva, antioxidante y probiótica). Esto, abre una ventana a su utilización como aditivos en el desarrollo de diversos productos en una variedad de áreas industriales entre ellas la de los alimentos, como una nueva gama de compuestos alternativos a los surfactantes de origen químico ampliamente usados. El presente documento de revisión se enfoca en dar un bosquejo general de los biosurfactantes, sus microorganismos productores, la función natural en dichos microorganismos generadores, condiciones de biosíntesis, así como las propiedades por las cuales pueden ser considerados potenciales alternativos, útiles y rentables en áreas de la tecnología de los alimentos.

Palabras claves: biosurfactantes, metabolitos secundarios, antimicrobianos, probióticos, antiadhesivos.

Abstract

The biological surfactants or commonly called “biosurfactants” are amphipathic nature secondary metabolites produced by a variety of microorganisms (bacteria, fungi and yeasts). These compounds exhibit surface active properties, namely reducing interfacial surface tension and allowing the formation and stabilization of heterogeneous systems such as emulsions. In addition, biosurfactants (BS) have shown certain advantages over their synthetic counterparts which are highly polluting. BS have a higher biodegradability, low toxicity, selectivity to extremes of pH, temperature and salinity as well as some biological activities (antimicrobial, anti-adhesive, antioxidant and probiotic), this may allow its use as an additive in the development of various products in a variety of industrial areas such as the food; opening a new alternative range of biotechnological compounds for the used synthetic surfactants. This review paper focuses on giving a general outline of biosurfactants, their producing microorganisms, the natural function in these microorganisms generators, conditions biosynthesis, and properties for which can be considered potential alternatives, useful and profitable in areas of food technology.

Keywords: biosurfactants, secondary metabolites, antimicrobial, probiotics, antiadhesives.

Introducción

Los agentes tensoactivos biológicos, comúnmente denominados biosurfactantes (BS) son compuestos extracelulares del metabolismo secundario generados en la fase estacionaria del crecimiento microbiano, tienen una naturaleza anfipática debido a que a nivel estructural presentan grupos hidrofílicos e hidrofóbicos, lo que les permite formar emulsiones reduciendo la tensión superficial, interfacial en mezclas acuosas e hidrocarbonadas. En los últimos años los BS han adquirido gran importancia al punto de estar siendo considerados como una posible alternativa al uso de surfactantes sintetizados químicamente (carboxilatos, sulfonatos entre otros), especialmente en la industria

farmacéutica y de los alimentos debido entre muchos factores a su alta biodegradabilidad y seguridad (Desai y Banat, 1997; Banat *et al.*, 2000; Centeno *et al.*, 2010; Ron y Rosenberg, 2001; Nitschke y Costa, 2007; Gharaei-Fathabad, 2011). Estos agentes tensoactivos biológicos han mostrado diversas propiedades interesantes como son: su baja toxicidad, alta biodegradabilidad, digestibilidad, compatibilidad por un mejor medio ambiente, alta capacidad espumante, alta selectividad y especificidad a temperaturas extremas, pH y salinidad, se sintetizan de fuentes renovables, aceptable producción económica, baja concentración micelar crítica, alta actividad de superficie y actividad biológica (antimicrobiana, antitumoral e inmunomoduladora), dichas propiedades constituyen una ventaja al compararlos con los surfactantes sintéticos, ya que estos últimos son considerados altamente contaminantes para el medio ambiente, por lo que se les ha propuesto que pueden ser posibles sustitutos (Desai y Banat, 1997; Kitamoto *et al.*, 2002; Nitschke y Costa, 2007;

✉ **Autor de correspondencia:** Alejandro de Jesús Cortés Sánchez, email: alecortes_1@hotmail.com. Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey, Escuela de Ingeniería en Industrias Alimentarias, Biotecnología y Agronomía. Av. Epigmenio González, N° 500, Fracc. San Pablo, C. P. 76130, Querétaro, Querétaro, México.

Saharan *et al.*, 2011). Los BS son producidos y secretados por una variedad de microorganismos (bacterias, levaduras y hongos) (Bicca *et al.*, 1999; Jiménez-Islas *et al.*, 2010) y se clasifican acorde a la naturaleza bioquímica de su estructura en: glicolípido, lipopéptido/lipoproteína, ácido graso/fosfolípido, polimérico y partículas surfactantes (Desai y Banat, 1997; Nasr *et al.*, 2009), tal y como se muestra en el Cuadro A, o bien, son divididos en base a su masa molecular, en BS de baja masa molecular como los glicolípidos y lipopéptidos, que reducen eficientemente la tensión interfacial y superficial en la interfaces aire/agua; y los BS de elevada masa molecular como exopolímeros que incluyen polisacáridos, lipopolisacáridos, lipoproteínas o mezclas complejas de estos biopolímeros, los cuales son más eficientes como agentes estabilizadores de emulsiones de aceite/agua. La estructura de estos compuestos se refleja en sus características interfaciales, donde sus grupos hidrofílicos típicos son carbohidratos (mono o polisacáridos), péptidos, aminoácidos, iones; mientras que los grupos hidrofóbicos son ácidos grasos saturados o insaturados, algunos ramificados o hidroxilados (Gautam y Tyagi, 2006; Nitschke y Costa, 2007). En el presente documento se muestra un bosquejo general de los biosurfactantes, sus microorganismos productores, la función natural en dichos microorganismos generadores, condicionantes de biosíntesis, así como las características y propiedades por las cuales pueden ser considerados útiles y rentables en algunas áreas de la tecnología de los alimentos.

Función natural de los biosurfactantes en el microorganismo productor

La función fisiológica de los BS en las células microbianas productoras no está del todo comprendida, sin embargo, hay especulaciones acerca de su papel en la emulsificación de sustratos insolubles en agua, enlazándose a éstos por fenómenos desorción, incrementando su solubilidad y la extensión del área superficial entre el sustrato y el microorganismo generador, facilitando la transferencia de masa sobre la superficie de la célula para el respectivo crecimiento (Lang y Wullbrandt, 1999; Ron y Rosenberg, 2001). También se ha mencionado que pueden estar involucrados en la movilidad microbiana, ya que si el microorganismo productor se encuentra en la interfase, estos compuestos pueden reducir la tensión interfacial y favorecer el movimiento en la búsqueda de ambientes nuevos para el crecimiento, reproducción y colonización. Por otro lado, la síntesis de BS puede contribuir a la unión y formación de películas en las interfases o al desprendimiento de los microorganismos productores de superficies; así como de la inhibición de la unión de otros microorganismos a las interfases donde se encuentran colonias productoras ya establecidas (Ron y Rosenberg, 2001; Kearns y Losick, 2003). Por otra parte, cuando los microorganismos productores son patógenos, estos compuestos presentan la función de humectantes o agentes de dispersión en la superficie de las células huésped, principalmente en BS de tipo lipopéptido, donde por ejemplo *Pseudomonas*

Cuadro A.- Clasificación de los biosurfactantes y sus microorganismos productores (Desai y Banat, 1997; Arutchelvi *et al.*, 2008; Raiger y López, 2009; Saharan *et al.*, 2011).

Clases de biosurfactantes		Microorganismo productor
Glicolípidos	Ramnolípidos	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
		<i>Serratia rubidea</i>
	Trehalolípidos	<i>Rhodococcus erithropolis</i>
		<i>Mycobacterium ssp.</i>
Soforolípidos	<i>Torulopsis bombicola</i>	
Lípidos de Manosileritritol	<i>Candida antartica</i>	
Lipopéptidos y lipoproteínas	Péptido-lípidos	<i>Bacillus licheniformis</i>
		<i>Pseudomonas flourecens</i>
	Viscosina	<i>Leuconostoc mesenteriodes</i>
		<i>Bacillus subtilis</i>
	Surfactina	<i>Bacillus subtilis</i>
	Subtilisina	
Polimixinas	<i>Bacillus polymyxa</i>	
Gramicidinas	<i>Bacillus brevis</i>	
Ácidos grasos, lípidos neutrales y fosfolípidos	Ácidos grasos	<i>Corynebacterium lepus</i>
		<i>Penicillium spiculisporuz</i>
	Lípidos neutrales	<i>Nocardia erithropolis</i>
Fosfolípidos	<i>Thiobacillus thiooxidans</i>	
Surfactantes poliméricos	Emulsan	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
	Liposan	<i>Candida lipolytica</i>
	Biodispersan	<i>Arthrobacter calcoaceticus</i>
Partículas surfactantes	Vesículas y fimbrias	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>

fluorescens, un patógeno de plantas que es capaz de producir decapéptidos cíclicos, los cuales reducen la tensión superficial en la epidermis de la planta acelerando la dispersión e infección del parásito sobre el huésped (Hildebrand *et al.*, 1998). Otro papel de los BS es su actividad antimicrobiana, esto como forma de competencia por la sobrevivencia y estabilidad en condiciones biológicas y ambientales adversas de un determinado hábitat (Desai y Banat, 1997; Ron y Rosenberg, 2001). Así mismo, la generación de estos compuestos con actividad de superficie puede ser considerada como fuente de energía y almacén de carbono extracelular extremas ya que, los BS denominados soforolípidos son producidos por levaduras osmofílicas y empleados como una opción para soportar altas presiones osmóticas existentes en cultivos con una elevada proporción de azúcares (Hommel *et al.*, 1994).

Factores condicionantes en la producción de biosurfactantes

Como se menciono anteriormente la producción de biosurfactantes es llevada a cabo por una diversidad de microorganismos (Cuadro A), cuyo rendimiento generado, así como la estructura química de estos compuestos activos, puede ser afectada por factores inherentes al medio de cultivo como son: la naturaleza de la fuente de carbono, nitrógeno, vitaminas, bases nitrogenadas, fósforo, sodio, magnesio, hierro, zinc y manganeso, así como de las condiciones operacionales empleadas, entre ellas: pH, temperatura, proporción de la dilución en cultivo continuo, tiempo de cultivo, agitación y aireación (Laith *et al.*, 2007; Mnif *et al.*, 2012; Hesham *et al.*, 2012). Khopade *et al.*, 2012, reportó que la síntesis de BS por *Nocardioopsis* sp. B4 utilizando varias fuentes de carbono con diferente polaridad (dextrosa, manitol, trehalosa, fructosa, maltosa, aceite de olivo, aceite de castor, aceite de eucalipto, aceite de coco y hexadecano) y fuentes de nitrógeno orgánicas e inorgánicas (alanina, fenilalanina, urea, sulfato de amonio, cloruro de amonio y nitrato de sodio) tuvo un mayor rendimiento de producción en fuentes de carbono no polares y fuentes de nitrógeno de naturaleza orgánica aminoacídica. Mientras que Sonali *et al.* (2011) al estudiar la producción de ramnolípidos por *Pseudomonas aeruginosa* OCD1 a diferentes condiciones de pH, temperatura, agitación, concentración del inóculo, cationes y de n-octadecano como sustrato, encontró que la producción de BS estaba fuertemente influenciada por dichos parámetros reportando que las condiciones óptimas de cultivo eran a 1% v/v tamaño del inóculo, 2% v/v de sustrato, 30°C, 125 r.p.m., pH 6.0 y adición de 30% p/v de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, obteniendo rendimientos en fase estacionaria de 0.98 mg/mL en ramnolípidos. Así mismo, la síntesis de BS puede incrementarse en condiciones donde la fuente de nitrógeno está limitada en el medio de cultivo como ocurre en hongos como *Candida tropicalis* (Singh *et al.*, 1990), *Ustilago maydis* (Hewald *et al.*, 2005) y bacterias del genero *Pseudomonas* (Ramana y Karanth, 1989). El género *Pseudomonas*, es uno de los más estudiados en la producción de BS y se ha encontrado que utilizando como principal fuente de nitrógeno a los nitratos, su producción puede incrementarse, considerando además, que el rendimiento de ramnolípidos (glicolípidos BS véase cuadro A) varía también

dependiendo de la naturaleza química de la fuente de carbono en el cultivo, ya sea hidrofóbicas (aceite de girasol 4.9 g/L, aceite de oliva 5.4 g/L, aceite de soya 4.8 g/L) o polares (glicerol 3.5 g/L, manitol 3.9 g/L), así mismo, la generación de BS se modifica con la tasa de agitación, pH y temperatura, siendo el rendimiento mayor en niveles de 50 a 200 r.p.m, con un descenso en la producción con un pH arriba de 7 y temperaturas de 42°C o superiores (Maqsood y Jamal, 2011). El efecto de la fuente de carbono y la aireación en la producción de BS también se presenta en otros microorganismos como *Bacillus subtilis* MUV4 donde Phitnaree *et al.* (2008) encontró que en la producción de BS, utilizando glucosa a diferentes concentraciones (0.5-2.5 % p/v) como fuente de carbono, glutamato monosódico y extracto de levadura como fuente de nitrógeno (1 y 0.3% respectivamente), con y sin aireación a 30°C; *Bacillus subtilis* MUV4 en condiciones de aireación a una concentración de glucosa de 1.5 % no presentó la mayor proporción de biomasa (8.88 mg/mL), pero mostró la mayor producción de agentes tensoactivos (0.77 mg/mL). Señalando además que en condiciones de aireación el crecimiento microbiano se ve estimulado, no así la generación de BS la cual se ve favorecida en condiciones de no aireación.

Potenciales aplicaciones de los biosurfactantes en tecnología de los alimentos

La producción mundial de surfactantes para la industria de los alimentos fue aproximadamente de 500.000 toneladas principalmente en 20 diferentes tipos (mono y diglicéridos de ácidos grasos, ésteres de mono y diglicéridos del ácido diacetiltartárico, estearoil-2-lactilato de sodio y de calcio, ésteres de sucrosa de ácidos grasos, ésteres de sorbitan y de poliglicerol de ácidos grasos, entre otros) estimándose además un crecimiento anual en su producción del 3 % (datos del 2008), siendo cerca del 50 % de los surfactantes principalmente usados en productos de panificación (pastelería/panadería) (Hasenhuettl y Hartel, 2008; Csáki, 2011). Por otra parte en las últimas décadas han aparecido y tomado relevancia los BS como productos de importancia biotecnológica y alternativas al uso de los surfactantes sintéticos (altamente contaminantes) en un amplio espectro de aplicaciones industriales en la agricultura, construcción, textiles, plásticos, papel y petróleo, esto debido a las múltiples propiedades como son: su alta actividad de superficie, baja toxicidad, biodegradabilidad, tolerancia a condiciones extremas de pH, temperatura y condiciones salinas entre otras, y por supuesto, en la industria de los alimentos por sus propiedades emulsificantes, antiadhesivas, solubilizantes, humectantes, espumantes, antimicrobianas y como ingredientes de formulación (Desai y Banat, 1997; Nitschke y Costa, 2007; Suwansukho *et al.*, 2008). Ejemplo de lo anterior se tiene que en el sector del procesamiento de frutas y vegetales estos compuestos biológicos son usados como agentes de limpieza y sanitizantes en la remoción de pesticidas. En la pastelería, panadería y producción de helados como agentes solubilizantes de sabor, control de la consistencia y retardo del endurecimiento, mientras que en el cocinado de grasas y aceites previenen salpicaduras debido al sobrecalentamiento (Kosaric, 2001). Mientras que

como ingredientes de formulación, promueven la formación y estabilización de emulsiones al reducir la tensión superficial e interfacial de las mezclas heterogéneas ampliamente distribuidas en el área de alimentos (Nitschke y Costa, 2007; Suwansukho *et al.*, 2008).

Los BS pueden ser usados además, con otras funciones en la tecnología de los alimentos, como por ejemplo, el control de la aglomeración de glóbulos de grasas, estabilización de sistemas aireados mejorando la textura, consistencia y vida media de productos cuya composición contiene almidón y a base de grasa, así como también contribuyen a modificar las propiedades reológicas de masas o harinas de trigo (Kachholz y Schlingmann, 1987). Mientras que en formulaciones de pastelería y helados, los BS empleados pueden intervenir controlando la consistencia y retardando el enranciamiento y solubilidad de sabores a base de aceite (Kosaric, 2001). Además, la adición de ramnolípidos generados principalmente por cepas del género *Pseudomonas* (Maqsood y Jamal, 2011) puede mejorar la estabilidad de las masas, textura, volumen y conservación de productos de panadería (Van Haesendonck y Vanzeveren, 2004; Van Haesendonck *et al.*, 2006), así como también, las propiedades de helados a base de mantequilla y productos congelados. Se ha informado que *Enterobacter cloacae* produce agentes tensoactivos con propiedades de incrementar la viscosidad en mezclas principalmente a pH bajos, en productos que contienen ácido ascórbico y cítrico (Iyer *et al.*, 2006; Nitschke y Costa, 2007). Por otra parte, estudios realizados han mostrado que *Bacillus subtilis* RW-I, genera un BS capaz de captar radicales libres (especie química reactiva, que posee un electrón desapareado en su configuración electrónica) protegiendo a la células del daño por estrés oxidativo debido a la interacción con el oxígeno, lo que puede constituir una opción para ser utilizados como aditivos naturales en la conservación de alimentos, reemplazando a los antioxidantes sintéticos ampliamente utilizados principalmente en los alimentos de naturaleza lipídica (Yalçın y Çavuşoğlu, 2010).

Los BS en la formación, estabilidad y rompimiento de emulsiones

Una emulsión es un sistema heterogéneo, termodinámicamente inestable, que consiste en una fase líquida inmiscible, dispersa en otra en forma de pequeñas gotas con un diámetro que no rebasa 0.1 μm , son generalmente de dos tipos: aceite en agua o agua en aceite, tales sistemas poseen una baja estabilidad que puede ser mejorada con la incorporación de aditivos como son los agentes de actividad de superficie (surfactantes), alcanzando una estabilidad de varios meses (Velikonja y Kosaric, 1993; Aranberri *et al.*, 2006; Nitschke y Costa, 2007). Se dice que un buen surfactante reduce la tensión superficial (TS) del agua de 72 a 30 mN/m y la tensión interfacial (TI) entre el agua y n-hexadecano de 40 a 1 mN/m (Mulligan, 2005; Nitschke y Costa, 2007; Pacwa-Płociniczak *et al.*, 2011); los BS pueden estabilizar (emulsificantes) o desestabilizar (deemulsificantes) una emulsión de manera más eficiente que los surfactantes sintéticos, lo que ha llevado a su utilización en la elaboración y procesamiento de los alimentos (Van Hamme *et al.*, 2006;

Nitschke y Costa, 2007). De esta manera, en los BS de alto peso molecular se ha visto mejor capacidad emulsificante, que los de bajo peso molecular; la surfactina reduce la TS del agua de 72 a 27.9 mN/m a concentraciones de 0,005 % (Gautam y Tyagi, 2006) y los lípidos de manosileritritol de *Candida antarctica* son capaces de reducir la TS de agua a 35 mN/m (Adamczak y Bednarski, 2000), mientras que los soforolípidos de *Torulopsis bombicola* reducen la TS a 33 mN/m y TI a 5 mN/m (Cooper y Paddock, 1984). Además, el lipopéptido obtenido de *Bacillus subtilis*, es capaz de formar emulsiones estables con aceite de soya y grasa de coco, sugiriendo un gran potencial de agente emulsificante en alimentos (Nitschke y Pastore, 2006). Por otra parte, la capacidad de emulsificación puede ser interesante en el procesamiento de alimentos en lo concerniente a grasas y aquellos que requieren tratamientos de lavado (Kachholz y Schlingmann, 1987).

Agentes con actividad antimicrobiana

La actividad antimicrobiana de los BS ha sido demostrada en la inhibición del crecimiento en una variedad de microorganismos, en la cual, el mecanismo de acción corresponde en la alteración de la integridad estructural o permeabilidad de la membrana celular, provocando posteriormente la lisis celular (Thimon *et al.*, 1995; Cameotra y Makkar, 2004). Esta actividad biológica puede permitir la opción de aplicarlos en la elaboración, conservación y control de la inocuidad de los alimentos. En múltiples estudios realizados por diferentes investigadores se ha observado tal efecto biológico, reportándose para esto la concentración mínima inhibitoria (CMI), la cual es la concentración más baja de un antimicrobiano que inhibe el crecimiento visible de un microorganismo después de un periodo determinado de incubación (Andrews, 2001), por ejemplo, una mezcla de ramnolípidos obtenida de *Pseudomonas aeruginosa* LBI y *Pseudomonas aeruginosa* AT10, mostraron una CMI contra microorganismos como *Escherichia coli*, de (250 $\mu\text{g}/\text{ml}$), *Salmonella thyphimurium* (16 $\mu\text{g}/\text{ml}$), *Enterobacter aerogenes* (4 $\mu\text{g}/\text{ml}$), *Staphylococcus aureus* (8 $\mu\text{g}/\text{ml}$), *Streptococcus faecalis* (4 $\mu\text{g}/\text{ml}$), *Bacillus subtilis* (8 $\mu\text{g}/\text{ml}$) (Benincasa *et al.*, 2004) y propiedades antifúngicas contra *Aspergillus niger* (16 $\mu\text{g}/\text{ml}$), *Chaetoniium globosum*, *Penicillium chrysogenum*, *Aureobasidium pullulans* (32 $\mu\text{g}/\text{mL}$) y fitopatógenos como *Botrytis cinerea* y *Rhizoctonia solani* (18 $\mu\text{g}/\text{mL}$) (Abalos *et al.* 2001). Mientras que lípidos de succinóil-trehalosa generados por *Rhodococcus erythropolis* presentan una acción antiviral contra el virus de la influenza y virus del herpes a una CMI de 10-30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (Banat *et al.*, 2000; Uchida *et al.*, 1989a, b). La surfactina un lipopéptido de *Bacillus subtilis* ha mostrado actividad contra virus del herpes y algunos retrovirus a una concentración de 80 μM (Vollenbroich *et al.*, 1997). Así mismo, se ha reportado que este lipopéptido presenta actividad contra el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH-1), sugiriendo que la acción antiviral es debida a la interacción fisicoquímica entre las membranas lipídicas del virus y el surfactante (Banat *et al.*, 2000). Finalmente, lipopéptidos cíclicos como iturina A, generados por *Bacillus subtilis*, que se sabe tienen actividad biológica, han sido utilizados en el tratamiento de micosis en humanos y animales, además de que han mostrado

una elevada actividad antifúngica a concentraciones de 50 a 100 ppm reduciendo la micoflora en granos de maíz, cacahuete y semilla de algodón durante su almacén (Klich *et al.*, 1994), mientras que Huang *et al.* (2006) reportó que el lipopéptido de *Bacillus subtilis* cuyos principales componentes son la surfactina y fengicina, mostraron una actividad antiviral in vitro reduciendo en un 50% los virus viables de parvovirus porcino y enfermedad de Newcastle a una concentración de 14.96 y 10.61 μM , respectivamente.

Los BS como agentes antiadhesivos

Una biopelícula se define como comunidades multicelulares adheridas a una superficie, estas incluyen a los microorganismos, así como el material extracelular producido sobre la misma superficie y son principalmente elaboradas por bacterias (Hood y Zottola, 1995; Irie *et al.*, 2005; Min-Jeong *et al.*, 2010). Las biopelículas son consideradas mecanismos de protección por parte de los microorganismos generadores frente a condiciones ambientales adversas, facilitando así la incorporación de nutrientes en las células (Maukonen *et al.*, 2003; De Araujo *et al.*, 2011). La adherencia microbiana y la formación consecuente de estas biopelículas está influida por múltiples factores como: el tipo de microorganismo, hidrofobicidad de la superficie, carga eléctrica, condiciones ambientales y la capacidad de los microorganismos de producir polímeros extracelulares que ayudan a sujetarse a la respectiva superficie (Zottola, 1994). La importancia de la generación de biopelículas en la industria de los alimentos radica en la patogénesis de varias infecciones, ya que éstas son fuentes potenciales de contaminación, guiando al deterioro de los alimentos y transmisión de enfermedades (Hood y Zottola, 1995; Irie *et al.*, 2005; Min-Jeong *et al.*, 2010). Lo anterior, ha propiciado el desarrollo y eficiencia de la limpieza de superficies que mantienen contacto con los alimentos, siendo los surfactantes sintéticos derivados del petróleo los más demandados para esta acción, pero generando serios problemas a la ecología por la contaminación que estos producen debido a su baja biodegradabilidad y alta toxicidad (Desai y Banat, 1997; Nitschke y Pastore, 2003; De Araujo *et al.*, 2011). Ante esto, los BS se proponen como una tentativa opción, ya que además de ser biodegradables y poco tóxicos presentan propiedades antiadhesivas, por lo que pueden ser usados como agentes de sanitización y reducir la contaminación de superficies en la elaboración de alimentos; ya que existe evidencia de que las prácticas de sanidad, inocuidad y seguridad alimentaria son menos efectivas con la presencia de microorganismos adheridos (Bagge-Ravn *et al.*, 2003; Nitschke y Costa, 2007; De Araujo *et al.*, 2011). Ante esto estudios muestran que los BS de *Streptococcus thermophilus* se han empleado en el control del deterioro de platos intercambiadores de calor en pasteurizadores, retardando la colonización de termófilos causantes del deterioro de los alimentos (Busscher *et al.*, 1997; Nitschke y Costa, 2007). Los ramnolípidos y surfactina de *Pseudomonas aeruginosa* y *Bacillus subtilis* respectivamente, reducen la adhesión en superficies de poliestireno a diferentes temperaturas (35, 25 y 4 °C) para cepas de *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes*, patógenos en la industria de los alimentos (Zeraik y Nitschke, 2010).

Mientras que los lipopéptidos producidos por *Bacillus subtilis* y *Bacillus licheniformis* inhiben la formación de biopelículas por adhesión de bacterias patógenas como *Escherichia coli* CFT073 y *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 en un 97 % y 90 %, respectivamente (Rivardo *et al.*, 2009). El Lunasan, un biosurfactante sintetizado por el hongo *Candida sphaerica* UCP 0995 el cual a una concentración de 10 mg/mL es capaz de inhibir la adhesión entre un 92 y 100% de microorganismos, la mayoría de ellos patógenos causantes de enfermedades como: *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus sanguis*, *Candida albicans*, y *Staphylococcus aureus* (Luna *et al.*, 2011). Por otra parte Rodríguez *et al.*, 2006a reportó que la bacteria *Streptococcus thermophilus* A produce un biosurfactante que disminuye las tasas de deposición inicial, adherencia y el número de microorganismos (aislados en prótesis de voz) como *Staphylococcus epidermidis* GB 9/6, *Streptococcus salivarius* GB 24/9, *Staphylococcus aureus* GB 2/1, *Rothia dentocariosa* GBJ 52/2B, *Candida albicans* GBJ 13/4A y *Candida tropicalis* GB 9/9) al ser expuestas en caucho de silicón previamente tratado con este BS, indicando que el pretratamiento con este tipo de tensoactivo es una potencial metodología para reducir la colonización microbiana en superficies como el silicón utilizado en prótesis para la voz.

Los BS como agentes favorecedores de la actividad probiótica en cepas productoras.

Los probióticos se definen como microorganismos viables que administrados en cantidades adecuadas pueden modificar la microflora del huésped, ejerciendo un efecto benéfico en la salud de este último. Las bacterias integrantes de los géneros *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* y *Enterococcus*, así como hongos del género *Saccharomyces* son considerados probióticos (Sanz *et al.*, 2003; Reyes y Rodríguez, 2010) pues está reconocido que estos pueden contribuir a un bienestar saludable del huésped mediante la prevención y el tratamiento de distintos trastornos gastrointestinales, alergias, reducción de la intolerancia a la lactosa; además de tener efectos de modulación en la respuesta inmunitaria y la disminución de los valores de colesterol (Sanz *et al.*, 2003; Manzano *et al.*, 2012). Los mecanismos de acción por parte de los probióticos son diversos, estando todavía algunos de ellos en fase de hipótesis, los cuales se basan en los efectos benéficos que producen, como son A) la actividad antimicrobiana, mediante la cual se evita la colonización intestinal por patógenos a través de la inhibición competitiva, descenso de pH intestinal; y producción de metabolitos (ácidos grasos libres, peróxido de hidrógeno, péptidos, compuestos diacetilados, ácido láctico, biosurfactantes, sustancias de bajo peso molecular y bacteriocinas) (Merk *et al.*, 2005; Reyes y Rodríguez, 2010; Brzozowski *et al.*, 2011). B) El incremento de la barrera muco-epitelial e interfiriendo en la adhesión y formación de biopelículas de microorganismos patógenos en las células epiteliales del tracto urogenital y gastrointestinal (Reid *et al.*, 2001; Fracchia *et al.*, 2011; Reyes y Rodríguez, 2010), principalmente mediante la liberación de moléculas con actividad de superficie (biotensoactivos) (Gudiña *et al.*, 2010; Rodríguez *et al.*, 2006bc; Fracchia *et al.*, 2011; Brzozowski *et al.*, 2011), C)

modulación de la respuesta inmune ya que se ha observado que algunas bacterias probióticas, pueden ser captadas por las células M que presentes en el epitelio y facilitar la estimulación del tejido linfoide asociado a la mucosa intestinal (Manzano *et al.*, 2012) y D) destoxificación del contenido intestinal al eliminar sustancias mutagénicas, cancerígenas y tóxicas, provenientes de los alimentos, así como, las producidas por altas poblaciones de bacterias colonicas, esto mediante la generación de compuestos antioxidantes, ácidos grasos de cadena corta con efecto protector de epitelio y estimulación de la movilidad intestinal para la eliminación de dichas sustancias (Reyes y Rodríguez, 2010). Extractos de BS producidos por cepas de naturaleza probiótica han sido sometidos a prueba en cuanto a su efecto en el crecimiento de diferentes microorganismos patógenos; Gudiña *et al.* (2010) reportó que los agentes tensoactivos generados por *Lactobacillus paracasei ssp. paracasei* A20 a una concentración de 25 mg/mL inhiben el crecimiento y desarrollo de bacterias y hongos patógenos como *Escherichia coli* (100 %), *Staphylococcus aureus* (95.2 %), *Staphylococcus epidermidis* (96.7 %), *Streptococcus pyogenes* (100%), *Pseudomonas aeruginosa* (83.5 %), *Candida albicans* (89.9 %), y *Trichophyton rubrum* (86.1 %). Así mismo Brzozowski *et al.* (2011) indicó que *Lactobacillus fermenti* 126 y *Lactobacillus rhamnosus* CCM 1825 sintetizan BS que pueden contribuir a evitar la adhesión de patógenos como *E. Coli* 22, *K. pneumoniae* 2 y *P.aeruginosa* W2 a superficies de poliestireno, sugiriendo además que la producción de BS por parte de estas cepas, permite que dichos microorganismos sean considerados en la elaboración de alimentos fermentados como el yogurt, ya que de esta manera dificultaría la adhesión a receptores de las células de epitelio gastrointestinal del huésped por parte de microorganismos patógenos, determinando así la competitividad de estas cepas probióticas por ocupar y colonizar un nicho ecológico. Mientras que por otro lado *Lactococcus lactis* otra cepa bacteriana probiótica puede inhibir el establecimiento y colonización del intestino humano, a través de la síntesis de biosurfactantes constituidos por xilosa y ácido octadecanoico que han mostrado efectiva actividad antibacteriana al provocar la ruptura de paredes celulares en patógenos como *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina, sugiriendo que estos BS pueden ser usados no solo como agentes terapéuticos sino también como conservadores en alimentos (Saravanakumari y Mani, 2010; Fracchia *et al.*, 2011).

Conclusiones

Los biosurfactantes han ido emergiendo cada vez con un mayor interés conforme transcurren múltiples investigaciones realizadas alrededor del mundo, mostrando y reafirmando las diversas propiedades químico-biológicas, ecológicas, y funcionales que poseen, y que por tales, son considerados y propuestos por diferentes científicos como potenciales alternativas de aplicación en distintas áreas industriales, destacando en este caso particular en etapas de la tecnología de alimentos que involucran su desarrollo, conservación e inocuidad. Las perspectivas actuales y a futuro en el campo de los BS, están enfocadas por una parte en investigaciones que aporten mayor información respecto a la búsqueda y mejoramiento genético de microorganismos

generadores, así como del desarrollo y optimización de bioprocesos que brinden un mayor rendimiento de producción, todo esto a su vez concatenado a costos menores de obtención. Mientras que por otro lado, es también menester realizar más estudios científicos para alcanzar una mayor información respecto a la toxicidad de los diferentes tensoactivos biológicos que han sido descubiertos y que pueden ser usados en el área de los alimentos; para que de esta manera dejen de ser una potencial alternativa y se introduzcan gradualmente en el mercado industrial como aditivos de empleo frecuente y variado, que satisfagan la gran demanda de múltiples productos de uso y consumo humano inherente de una población en constante crecimiento.

Referencias

- Abalos A, Pinazo A, Infante MR, Casals M, García F, Manresa A.** 2001. Physicochemical and antimicrobial properties of new rhamnolipids produced by *Pseudomonas aeruginosa* AT10 from soybean oil refinery wastes. *Langmuir* 17:1367-1371.
- Adamczak M, Bednarski W.** 2000. Influence of medium composition and aeration on the synthesis of biosurfactants produced by *Candida antarctica*. *Biotechnol. Lett.* 22:313-316.
- Andrews JM.** 2001. Determination of minimum inhibitory concentrations. *J. Antimicrob Chemother.* 48 Suppl 1:5-16.
- Aranberri I, Binks BP, Clint JH, Fletcher, PDI.** 2006. Elaboración y caracterización de emulsiones estabilizadas por polímeros y agentes tensoactivos. *Rev. Iberoam. Polím.* 7:211-231.
- Arutchevi JI, Bhaduri S, Uppara PV, Doble M.** 2008. Mannosylerythritol lipids: a review. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 35:1559-1570.
- Bagge-Ravn D, Ng Yin, Hjelm M, Christiansen JN, Johansen C, Gram L.** 2003. The microbial ecology of processing equipment in different fish industries-analysis of the microflora during processing and following cleaning and disinfection. *Int. J. Food Microbiol.* 87:239-250.
- Banat IM, Makkar RS, Cameotra SS.** 2000. Potential commercial applications of microbial surfactants. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 53:495-508.
- Benincasa M, Abalos A, Oliveira I, Manresa A.** 2004. Chemical structure, surface properties and biological activities of the biosurfactant produced by *Pseudomonas aeruginosa* LBI from soapstock. *Antonie van Leeuwenhoek* 85: 1-8.
- Bicca FC, Fleck LC, Ayub MAZ.** 1999. Production of biosurfactants by hydrocarbon degrading *Rhodococcus ruber* and *Rhodococcus erythropolis*. *Rev. Microbiol.* 30:231-236.
- Brzozowski B, Bednarski W, Golek P.** 2011. The Adhesive Capability of Two *Lactobacillus* Strains and Physicochemical Properties of Their Synthesized Biosurfactants. *Food Technol. Biotechnol.* 49:177-186.
- Busscher HJ, van Hoogmoed CG, Geertsema-Doornbusch GL, van der Kuijl-Booij M, van der Mei HC.** 1997. *Streptococcus thermophilus* and its biosurfactants inhibit adhesion by *Candida* spp. on silicone rubber. *Appl. Environ. Microbiol.* 63:3810-3817.
- Cameotra SS, Makkar RS.** 2004. Recent applications of biosurfactants as biological and immunological molecules. *Curr. Opin. Microbiol.* 7:262-266.

- Centeno da Rosa CF, Michelon M, de Medeiros BJB, Kalil SJ, Veiga BCA.** 2010. Production of a rhamnolipid-type biosurfactant by *Pseudomonas aeruginosa* LBM10 grown on glycerol. *Afr. J. Biotechnol.* 9:9012-9017.
- Cooper DG, Paddock, DA.** 1984. Production of a biosurfactant from *Torulopsis bombicola*. *Appl. Environ. Microbiol.* 47:173-176.
- Csáki KF.** 2011. Synthetic surfactant food additives can cause intestinal barrier dysfunction. *Med. Hypotheses.* 76:676-681.
- De Araujo LV, Abreu F, Lins U, Santa ALMM, Nitschke M, Freire DMG.** 2011. Rhamnolipid and surfactin inhibit *Listeria monocytogenes* adhesion. *Food Res. Int.* 44:481-488.
- Desai JD, Banat IM.** 1997. Microbial production of surfactants and their commercial potential. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 61:47-64.
- Fracchia L, Cavallo M, Martinotti MG, Banat IM.** 2011. Biosurfactants and bioemulsifiers biomedical and related applications - present status and future potentials. In *Biomedical science, engineering and technology*. (Chapter 14). (pp. 325-370). Rijeka, Croatia: InTech.
- Gautam KK, Tyagi, VK.** 2006. Microbial surfactants: a review. *J. Oleo Sci.* 55:155-166.
- Gharaei-Fathabad E.** 2011. Biosurfactants in pharmaceutical industry: A mini-Review. *Amer. J. Drug Disc. Devel.* 1:58-69.
- Gudiña EJ, Teixeira JA, Rodrigues LR.** 2010. Isolation and functional characterization of a biosurfactant produced by *Lactobacillus paracasei*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.* 76:298-304.
- Hasenhuettl, Gerard L, Hartel, Richard W.** 2008. Food emulsifiers and their applications. (2nd. ed.). New York, NY, USA: Springer Science + Business Media, LLC.
- Hesham MM, Mohamed AF, Mohamed NH.** (2012). Production of Biosurfactant from Certain Candida strains Under Special Conditions. *Researcher* 4:39-55.
- Hewald S, Josephs K, Bölker M.** 2005. Genetic analysis of biosurfactant production in *Ustilago maydis*. *Appl. Environ. Microbiol.* 71: 3033-3040.
- Hildebrand PD, Braun PG, McRae KB, Lu X.** 1998. Role of the biosurfactant viscosin in broccoli head rot caused by a pectolytic strain of *Pseudomonas fluorescens*. *Can. J. Plant Pathol.* 20:296-303.
- Hommel RK, Weber L, Weiss A, Himmelreich U, Rilke O, Kleber HP.** 1994. Production of sophorose lipid by *Candida (Torulopsis) apicola* grown on glucose. *J. of Biotechnol.* 33:147-155.
- Hood SK, Zottola EA.** 1995. Biofilms in food processing. *Food Control.* 6:9-18.
- Huang X, Lu Z, Zhao H, Bie X, Lü F, Yang S.** 2006. Antiviral activity of antimicrobial lipopeptide from *Bacillus subtilis* fmbj against pseudorabies virus, porcine parvovirus, Newcastle disease virus and infectious bursal disease virus *in vitro*. *Int. J. Pept. Res. Therapeut.* 12:373-377.
- Irie Y, O'Toole GA, Yuk MH.** 2005. *Pseudomonas aeruginosa* rhamnolipids disperse *Bordetella bronchiseptica* biofilms. *FEMS Microbiol. Lett.* 250:237-243.
- Iyer A, Mody K, Jha B.** 2006. Emulsifying properties of a marine bacterial exopolysaccharide. *Enzym. Microb. Technol.* 38:220-222.
- Jiménez-Islas D, Medina-Moreno SA, Gracida-Rodríguez JN.** 2010. Propiedades, aplicaciones y producción de biotensoactivos Revisión/ Review. *Rev. Int. Contam. Ambie.* 26:65-84.
- Kachholz T, and Schlingmann M.** 1987. Possible food and agricultural application of microbial surfactants: an assessment. In *Biosurfactants and biotechnology*. (pp.183-210). New York, NY: Marcel Dekker, Inc.
- Kearns DB, Losick R.** 2003. Swarming motility in undomesticated *Bacillus subtilis*. *Mol. Microbiol.* 49:581-590.
- Khopade A, Biao R, Liu X, Mahadik K, Zhang L, Kokare C.** 2012. Production and stability studies of the biosurfactant isolated from marine *Nocardioopsis* sp. *B4A. Desalination* 285:198-204.
- Kitamoto D, Isoda H, Nakahara T.** 2002. Functions and potential applications of glycolipid biosurfactants - from energy - saving materials to gene delivery carriers. *J. Biosci. Bioeng.* 94:187-201.
- Klich MA, Arthur KS, Lax AR, Bland JM.** 1994. Iturin A: a potential new fungicide for stored grains. *Mycopathol.* 127:123-127.
- Kosaric N.** 2001. Biosurfactants and their application for soil bioremediation. *Food Tech. Biotechnol.* 39:295-304.
- Laith Al-Araji, Raja Noor Zaliha Raja Abd Rhaman, Mahiran Basri, Abu Baker Salleh.** 2007. Minireview. *Microbial surfactant. Asia Pacific J. Mol. Biol. Biotechnol.* 15:99-105.
- Lang S, Wullbrandt D.** 1999. Rhamnolipids-biosynthesis, microbial production and application potential. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 51:22-32.
- Luna JM, Rufino RD, Sarubbo LA, Rodrigues LR, Teixeira JA, De Campos-Takaki GM.** 2011. Evaluation antimicrobial and antiadhesive properties of the biosurfactant Lunasan produced by *Candida sphaerica* UCP 0995. *Curr. Microbiol.* 62:1527-1534.
- Manzano AC, Estupiñán GD, Poveda EE.** 2012. Efectos clínicos de los probióticos: qué dice la evidencia. *Rev. Chil. Nutr.* 39:98-11.
- Maqsood MI, Jamal A.** 2011. Factors affecting the rhamnolipid biosurfactant production. *Pak. J. Biotechnol.* 8:1-5.
- Maukonen J, Mättö J, Wirtanen G, Raaska T, Matilla-Sandholm T, Saarela M.** 2003. Methodologies for the characterization of microbes in industrial environments: A review. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 30:327-356.
- Merk K, Borelli C, Korting HCh.** 2005. Lactobacilli-bacteria-host interactions with special regard to the urogenital tract. *Int. J. Med. Microbiol.* 295 1:9-18.
- Min-Jeong L, Ji-Hyoung H, Yong-Su K, Jee-Hoon R, Sang-Do H.** 2010. Reduction of *Bacillus cereus* Contamination in Biofilms on Stainless Steel Surfaces by Application of Sanitizers and Commercial Detergent. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 53:89-93.
- Mnif I, Chaabouni-Ellouze S, Ghribi D.** 2012. Optimization of the nutritional parameters for enhanced production of *B. subtilis* SPB1 biosurfactant in submerged culture using response surface methodology. *Biotechnol. Res. Int.* Article ID 795430, 8 pages doi:10.1155/2012/795430
- Mulligan CN.** 2005. Environmental applications for biosurfactants. *Environ. Poll.* 133:183-198.
- Nasr S, Soudi MR, Mehrnia MR, Sarrafzadeh MH.** 2009. Characterization of novel biosurfactant producing strains of *Bacillus* spp. isolated from petroleum contaminated soil. *Iran. J. Microbiol.* 1:54-61.
- Nitschke M, Costa SGVAO.** 2007. Biosurfactants in food industry. *Trends in Food Sci. & Technol.* 18:252-259.

- Nitschke M, Pastore GM.** 2003. Biosurfactantes a partir de resíduos agroindustriais. *Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento.* 6:63-67.
- Nitschke M, Pastore GM.** 2006. Production and properties of a surfactant obtained from *Bacillus subtilis* grown on cassavawastewater. *Bioresource Technol.* 97: 336-341.
- Pacwa-Płociniczak M, Plaza Grażyna A, Piotrowska-Seget Z, Cameotra SS.** 2011. Environmental applications of biosurfactants: recent advances. *Int. J. Mol. Sci.* 12:633-654.
- Phitnaree S, Vatcharin R, Furusako K, Aran H-K.** 2008. Production and applications of biosurfactant from *Bacillus subtilis* MUV4. *Songklanakarin J. Sci. Technol.*30: 87-93.
- Raiger Iustman LJ, López NI.** 2009. Los biosurfactantes y la industria petrolera. *Rev. Química Viva* 3: 146-161.
- Ramana VK, Karanth NG.** 1989. Factors affecting biosurfactant production using *Pseudomonas aeruginosa* CFTR-6 under submerged conditions. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 45:249-257.
- Reid G, Bruce Andrew W, Fraser N, Heinemann C, Owen J, Henning B.** 2001. Oral probiotics can resolve urogenital infections. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 30:49-52.
- Reyes Esparza JA, Rodríguez Fragoso L.** 2010. ¿Qué sabe Ud. acerca de...los probióticos?. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas* 41:60-63.
- Rivardo F, Turner RJ, Allegrone G, Ceri H, Martinotti MG.** 2009. Anti-adhesion activity of two biosurfactants produced by *Bacillus* spp. prevents biofilm formation of human bacterial pathogens. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 83:541-553.
- Rodrigues L, van der Mei H, Banat IM, Teixeira J, Oliveira R.** 2006a. Inhibition of microbial adhesion to silicone rubber treated with biosurfactant from *Streptococcus thermophilus* A. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 46:107-112.
- Rodrigues LR, Moldes A, Teixeira JA, Oliveira R.** 2006b. Kinetic study of fermentative biosurfactant production by *Lactobacillus* strains. *Biochem Eng J* 28:109-116.
- Rodrigues LR, Teixeira JA, van der Mei HC, Oliveira R.** 2006c. Physicochemical and functional characterization of a biosurfactant produced by *Lactococcus lactis* 53. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 49:79-86.
- Ron EZ, Rosenberg E.** 2001. Natural roles of biosurfactants. *Environ. Microbiol.* 3:229-236.
- Saharan BS, Sahu RK, Sharma D.** 2011. Review on Biosurfactants: Fermentation, Current Developments and Perspectives. *Genet. Eng. Biotechnol. J. GEBJ-29:*1-14.
- Sanz Y, Collado MC, Dalmau J.** 2003. Probióticos: criterios de calidad y orientaciones para el consumo. *Acta Pediatr. Esp.* 61:476-482.
- Saravanakumari P, Mani K.** 2010. Structural characterization of a novel xylolipid biosurfactant from *Lactococcus lactis* and analysis of antibacterial activity against multi-drug resistant pathogens. *Bioresource Technol.* 101:8851-8854.
- Singh M, Saini VS, Adhikari DK, Desai JD, Sista VR.** 1990. Production of bioemulsifier by a SCP-producing strain of *Candida tropicalis* during hydrocarbon fermentation. *Biotechnol. Lett.* 12:743-746.
- Sonali S, Sriparna D, Dipa Bi.** 2011. Optimization of Culture Conditions for Biosurfactant Production from *Pseudomonas aeruginosa* OCD1. *J. Adv. Sci. Res.* 2: 32-36.
- Thimon L, Peypoux F, Wallach J, Michel G.** 1995. Effect of lipopeptide antibiotic, iturin A, on morphology and membrane ultrastructure of yeast cells. *FEMS Microbiol. Lett.* 128:101-106.
- Uchida Y, Tsuchiya R, Chino M, Hirano J, Tabuchi T.** 1989a. Extracellular accumulation of mono and di succinyl trehalose lipids by a strain of *Rhodococcus erythropolis* grown on n-alkanes. *Agric. Biol. Chem.* 53: 757-763
- Uchida Y, Misava S, Nakahara T, Tabuchi T.** 1989b. Factor affecting the production of succinotrehalose lipids by *Rhodococcus erythropolis* SD-74 grown on n-alkanes. *Agric. Biol. Chem.* 53: 765-769.
- Van Haesendonck, Ingrid Paula Hilda, Vanzeveren, Emmanuel Claude Albert.** 2004. Rhamnolipids in bakery products. *European Patent Application.* Nº: EP 1 415 538 A1.
- Van Haesendonck, Ingrid Paula Hilda, Vanzeveren, Emmanuel Claude Albert.** 2006. Rhamnolipids in bakery products. *United States. Patent Application Publication.* Nº: US 2006/0233935 A1
- Van Hamme JD, Singh A, Ward OP.** 2006. Physiological aspects: part 1 in a series of papers devoted to surfactants in microbiology and biotechnology. *Biotechnol. Adv.* 24:604-620.
- Velikonja J, Kosaric N.** 1993. Biosurfactants in food applications. In N Kosaric (Ed.), *Biosurfactants: Production, properties and applications* (pp. 419e446). New York: Marcel Dekker.
- Vollenbroich D, Özel M, Vater J, Kamp RM, Pauli G.** 1997. Mechanism of inactivation of enveloped viruses by the biosurfactant surfactin from *Bacillus subtilis*. *Biologicals* 25:289-297.
- Yalçın E, Çavuşoğlu, K.** 2010. Structural analysis and antioxidant activity of a biosurfactant obtained from *Bacillus subtilis* RW-I. *Turk. J. Biochem.* 35:243-247.
- Zeraik AE, Nitschke M.** 2010. Biosurfactants as agents to reduce adhesion of pathogenic bacteria to polystyrene surfaces: effect of temperature and hydrophobicity. *Curr. Microbiol.* 61:554-559.
- Zottola EA.** 1994. Microbial attachment and biofilm formation, a new problem for the food industry?. *Food Technol.* 48:107-114.