



Estudo do Interesse da Aplicação de Biossurfactantes na Indústria de Cosméticos

Luiz Fernando Motta dos Santos

Projeto de Final de Curso

Orientador (a)

Prof^a Andréa Medeiros Salgado, D.Sc.

Março de 2013

ESTUDO DO INTERESSE DA APLICAÇÃO DE BIOSSURFACTANTES NA INDÚSTRIA DE COSMÉTICOS

Luiz Fernando Motta dos Santos

Projeto de Final de Curso submetido ao Corpo Docente da Escola de Química, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Engenheiro de Bioprocessos.

Aprovado por:

Prof^o Daniel Weingart Barreto, D.Sc.

Prof^a Melissa Limoeiro Estrada Gutarra, D.Sc.

Prof^o Estevão Freire, D.Sc.

Orientado por:

Prof^a Andréa Medeiros Salgado, D.Sc.

Rio de Janeiro, RJ – Brasil

Março de 2013

Motta-Santos, Luiz Fernando.

Estudo do Interesse da Aplicação de Biossurfactantes na Indústria de Cosméticos/ Luiz Fernando Motta dos Santos. Rio de Janeiro: EQ/UFRJ, 2013.

(Projeto de Final de Curso) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, 2013.

Orientador: Prof^ª Andréa Medeiros Salgado, D.Sc.

1. Biossurfactantes. 2. Tensoativo. 3. Cosméticos

Resumo do Projeto de Final de Curso apresentado à Escola de Química como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de Engenheiro de Bioprocessos.

ESTUDO DO INTERESSE DA APLICAÇÃO DE BIOSURFACTANTES NA INDÚSTRIA DE COSMÉTICOS

Luiz Fernando Motta dos Santos

Março, 2013

Orientador: Prof^ª Andréa Medeiros Salgado, D.Sc.

Os surfactantes são moléculas que modificam as tensões superficial e interfacial de uma preparação na qual estão presentes, permitindo a mistura de substâncias polares e apolares. Há várias décadas os surfactantes tem tido importantes aplicações em diferentes indústrias (cosméticos, produtos de limpeza, tintas, fertilizantes, etc.), onde se estima que até 75% dos surfactantes utilizados por estas, nos países industrializados, tem origem petroquímica. Contudo, recentemente, a questão do seu impacto ambiental assumiu o centro das atenções dos fabricantes e formuladores. Nessa nova configuração que o mercado vem adquirindo, a demanda por surfactantes naturais e biodegradáveis, com baixa ecotoxicidade e melhor aceitação dos consumidores vem crescendo. Os biossurfactantes, classe de tensoativos que preenche esses requisitos, podem ser metabólitos secundários de um organismo vegetal, tensoativos que apesar de terem sofrido algumas transformação química têm como origem matérias-primas naturais ou moléculas sintetizadas por microrganismos quando em condições de cultivo específicas. Esta classe de compostos contempla um espectro tão amplo de famílias químicas, que a definição de uma estratégia que permita a seleção dos melhores candidatos a efetivamente fazerem parte de um processo industrial, se faz imperativa. Este estudo contempla o desenvolvimento de um método de varredura de novas matérias-primas surfactantes de origem natural ou biotecnológica. Desenvolvido com o apoio de uma multinacional da indústria de cosméticos, baseia-se na pré-seleção de um representante de cada família química, um plano de experimentos e um método de preparação otimizada seguido de uma etapa de avaliação sensorial, que permitiram uma caracterização bastante eficaz das preparações obtidas. Depois de compilar e analisar os dados, tendências específicas de comportamento dessas matérias-primas puderam ser identificadas, além da conclusão de regras gerais de formulação, que uma vez validadas, calcaram as decisões estratégicas de investimento de pesquisa e desenvolvimento em uma ou outra família de biossurfactante diferentes.

SUMÁRIO

I. SURFACTANTES	1
I.1. DEFINIÇÕES E PROPRIEDADES.....	1
I.2. CLASSIFICAÇÕES DOS SURFACTANTES.....	2
I.3. ASPECTOS ECONÔMICOS E AMBIENTAIS	5
II. BIOSSURFACTANTES	9
II.1. DEFINIÇÕES	9
II.2. BIOSSURFACTANTES DE ORIGEM VEGETAL	12
II.2.1. <i>Saponinas</i>	12
II.2.2. <i>Lecitinas</i>	13
II.3. BIOSSURFACTANTES “SINTÉTICOS”	15
II.4. BIOSSURFACTANTES DE ORIGEM BIOTECNOLÓGICA.....	17
II.4.1. <i>Ramnolipídeos</i>	20
II.4.2. <i>Soforolipídeos</i>	22
II.4.3. <i>Classes Químicas Emergentes</i>	24
III. ESTUDO DE CASO	29
III.1. ESCOPO DO PROJETO	29
III.2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	30
III.2.1. <i>Seleção de Matérias-Primas</i>	30
III.2.2. <i>Planejamento Experimental</i>	30
III.2.3. <i>Formulação Rápida</i>	32
III.2.4. <i>Análise Sensorial</i>	33
III.3. RESULTADOS E DISCUSSÕES	34
III.3.1. <i>Framework do Mercado</i>	34
III.3.2. <i>A Contribuição dos Novos Surfactantes</i>	36
III.3.2.1. Generalidades.....	36
III.3.2.2. Os Novos Surfactantes	37
III.3.3. <i>Regras Gerais de Formulação</i>	42
III.3.3.1. Efeito <i>Fondant</i>	43
III.3.3.2. Efeito Superelástico.....	45
III.3.3.3. Efeito de Inversão de Fases	46
III.4. CONCLUSÕES	48
IV. PERSPECTIVAS	49
APÊNDICES	50
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características estruturais dos surfactantes representantes de cada classe iônica.	3
Tabela 2 – Aplicações prováveis para surfactantes não-iônicos em relação aos valores de HLB. (Christofi & Ivshina, 2002)	4
Tabela 3 – Biossurfactantes e seus efeitos em cada uma de suas aplicações (Kosaric, 2001). ...	10
Tabela 4 – Tipos de biossurfactante de origem biotecnológica, suas respectivas famílias químicas e principais microrganismos produtores (Desai & Banat, 1997).	17
Tabela 5 – Códigos de identificação de cada um dos biossurfactantes estudados utilizados nos gráficos.	35
Tabela 6 – Resumo dos resultados obtidos sobre as propriedades dos surfactantes estudados. (+): mais estável e (-): instável.	41

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Representação esquemática de um surfactante.	1
Figura 2 – Representação esquemática das diferentes estruturas agregadas resultantes da auto- associação de surfactantes em soluções coloidais. Representadas em amarelo as fases oleosas e em azul as fases aquosas. a) Surfactante livre em solução; b) Micela; c) Cone em fase oleosa; d) Micela reversa com dimensão controlada pelo conteúdo de água; e) Cilindros interconectados; f) Fase lamelar planar; g) Fase lamelar em forma de cebola. (Pileni, 2003)	2
Figura 3 – Solubilidade e tensões superficial e interfacial em função da concentração de surfactante. CMC: Concentração micelar crítica. (Mulligan, Yong, & Gibbs, 2001).....	4
Figura 4 – Exemplo da estrutura de uma saponina com suas agliconas (Christian Dior, 2003). 12	
Figura 5 – Representação da estrutura genérica de uma lecitina. Estrutura de uma fosfatidiletanolamina, onde R são cadeias carbônicas derivadas de ácidos graxos (IUPAC, 2006).	14
Figura 6 – Ilustração dos principais parâmetros envolvidos nos processos fermentativos de biomassa (Fiechter, 1992).	19
Figura 7 – Representação das estruturas genéricas dos mono- e di-ramnolipídeos, onde m,n = 6, 8, 10, 12 ou 12:1 (Soberón-Chavéz, Lépine, & Déziel, 2005).	20
Figura 8 – Exemplo da estrutura genérica de um soforolípido: (A) em sua forma de lactona e não-iônica; (B) em sua forma ácida e aniônica (Ma, Li, & Song, 2012).	23
Figura 9 – Representação das estruturas genéricas das principais moléculas de manosileritritol. Onde n = 6-12, Mel-A : R1 = R2 = acetil, Mel-B : R1 = acetil e R2 = H, Mel-C : R1 = H e R2 = acetil, Mel-D : R1 = R2 = H (Kitamoto, Haneishi, & Nakahara, 1990).	25
Figura 10 – Representação da estrutura genérica de uma molécula de trealodiorinomicolato, um trealolípido produzido por <i>Rhodococcus erythropolis</i> DSM 43215. n + m = 27 to 30 (Ghent University, 2009).....	25
Figura 11 – Estrutura da surfactina, lipopeptídeo produzido pelo gênero <i>Bacillus</i> (Ghent University, 2009).....	26
Figura 12 – Estrutura da cadeia polimérica de Emulsan (Zhang, Gorkovenko, Gross, Allen, & Kaplan, 1997).	27
Figura 13 – Estabilidade dos surfactantes isoladamente. Em rosa os ensaios bifásicos e em amarelo as formulações homogêneas, os círculos vermelhos mostram zonas de instabilidade e o círculo verde a zona de estabilidade do DLAG.....	36

Figura 14 – Estabilidade das combinações de saponina e dos quatro surfactantes comerciais de referência com os outros surfactantes. Em rosa os ensaios bifásicos e em amarelo as formulações homogêneas.	37
Figura 15 – Nível de rinsagem das preparações contendo DLAG e dos quatro surfactantes comerciais de referência combinados a outros surfactantes. Em rosa os ensaios de difícil rinsagem, em verde de rinsagem média e em azul os de rinsagem fácil.	38
Figura 16 – Frescor das preparações contendo lecitinas associadas a outros surfactantes. Em rosa as fórmulas sem frescor particular, em azul as preparações frescas; a zona verde mostra a interação entre lecitinas e soforolipídeo.	39
Figura 17 – Formação de filme branco (saponificação) sobre a pele durante a aplicação. Comparação das preparações contendo combinações de APGs com outros surfactantes. Em rosa formulações que formam filme branco, em azul as formulações onde o mesmo é ausente.	40
Figura 18 – Penetração das preparações contendo água como fase polar. Concentração mássica de óleo <i>versus</i> concentração de água; em rosa penetração difícil, em verde penetração média e em azul os ensaios de fácil penetração.	42
Figura 19 – Penetração das preparações contendo glicerol como fase polar. Concentração mássica de óleo <i>versus</i> concentração de água; em rosa penetração difícil, em verde penetração média e em azul os ensaios de fácil penetração.	43
Figura 20 – Zona de ocorrência do efeito <i>fondant</i> . Gráfico da concentração de cera <i>versus</i> concentração de óleo; em azul as preparações onde se identifica o efeito <i>fondant</i>	44
Figura 21 – Subzonas de ocorrência do efeito <i>fondant</i> identificadas pela predominância de um tipo de óleo. Gráfico da concentração de cera <i>versus</i> concentração de óleo; em azul as preparações geradas pelo óleo de jojoba, em rosa as geradas pelo dicaprilil carbonato e em verde as geradas pelo esqualano.	45
Figura 22 – Zona de ocorrência do efeito superelástico. Gráfico da concentração de goma xantana contra concentração de QSP (glicerol, essencialmente); em verdes ensaios nem elásticos nem viscosos, em amarelo ensaios elásticos ou viscosos e em ensaios elásticos e viscosos; (□), (○), (◇), (Δ) representam, respectivamente, concentrações crescentes de talco.	46
Figura 23 – Zona de ocorrência do efeito de inversão de fases. Gráfico de associações entre os surfactantes; em azul as preparações que sofrem inversão de fases durante a aplicação.	47

NOMENCLATURA

SDS : Dodecil Sulfato de Sódio

BHL : Balanço Hidrofílico-Lipofílico

CMC : Concentração Micelar Crítica

TP-benzeno : Tetrâmero de Propileno com Benzeno

ABS : Alquilbenzeno Sulfonato

LAS : Alquilbenzeno Sulfonato Linear

PFOS : Perfluorooctano Sulfonato

PC : Fosfatidilcolina

FDA : Food and Drug Administration

OCDE : Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico

APG : Alquilpoliglicosídeo

FAME : Metil-sulfonatos de Ésteres Metílicos de Ácidos Graxos

APP : Alquilpolipentosídeo

OGM : Organismo Geneticamente Modificado

12-HETE : Ácido 12-Hidroxi-Eicosatetraenóico

MEL : Lipídeo de Manosileritritol

P&D : Pesquisa e Desenvolvimento

RPS : Rotações por Segundo

INCI : Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos

PG : Poliglicerol

DLAG : Dilauramidoglutamina Lisina

QSP : Quantidade Suficiente Para

O/W : Emulsão óleo em água

W/O : Emulsão água em óleo

I. Surfactantes

I.1. Definições e Propriedades

O termo surfactante ou tensoativo é uma definição genérica dada ao grupo químico de moléculas que têm a capacidade de se posicionar estereo-seletivamente de acordo com as polaridades de duas fases distintas, mudando assim as tensões interfacial e superficial. Isto é possível pela estrutura anfifílica desses compostos tensoativos. Todo surfactante possui um grupamento apolar que interage com a fase lipofílica, porém a mesma molécula sempre possui um grupamento polar que interage com a água ou outras substâncias polares, denominado grupo hidrofílico (Figura 1). Portanto, a anfipatia que os tensoativos exibem é resultado de porções hidrofóbicas e hidrofílicas que apresentam solubilidades distintas em fases polares e apolares (Mulligan & Gibbs, 1993).

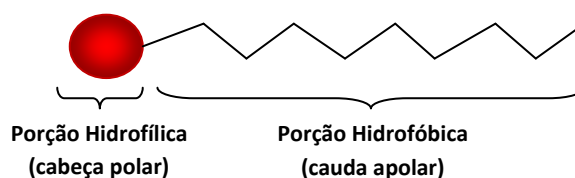


Figura 1 – Representação esquemática de um surfactante.

A porção hidrofílica de um agente tensoativo é constituída de grupamentos polares, tais como grupos sulfonato, sulfato, carboxilato, amônio quaternário, betaínicos ou cadeias polioxietilênicas, como no caso dos tensoativos não-iônicos etoxilados, ao passo que a porção hidrofóbica é comumente constituída de cadeias de hidrocarbonetos alifáticos, ramificados ou lineares, aromáticos, ou de combinações entre eles. O comprimento da cadeia apolar, o grau de ramificação da cadeia, o tipo e a posição do grupo polar de cabeça são parâmetros importantes que influenciam as propriedades físico-químicas dos surfactantes (Myers, 2005). A combinação de diferentes porções hidrofóbica e hidrofílica de um tensoativo resulta em um número considerável de diferentes substâncias. Para uma mesma porção hidrofóbica, diversos agentes tensoativos podem ser obtidos variando-se a porção hidrofílica, e o mesmo vale para uma porção hidrofílica determinada e diferentes domínios hidrofóbicos.

Dessa modificação das tensões superficial e interfacial decorre uma série de propriedades correlatas, dentre as quais se destaca a propriedade fundamental dos surfactantes de formar monômeros livres em solução, que tendem a formar agregados (Figura 2). A formação de micelas pode ser considerada como um mecanismo alternativo para a absorção nas interfaces para remover os grupos hidrofóbicos do contato com a água, reduzindo assim a energia livre do sistema. Este é um fenômeno de inparticular interesse, porque as moléculas de surfactante se comportam de maneira muito diferente dependendo da forma em que se encontram, micelas ou monômeros livres em solução.

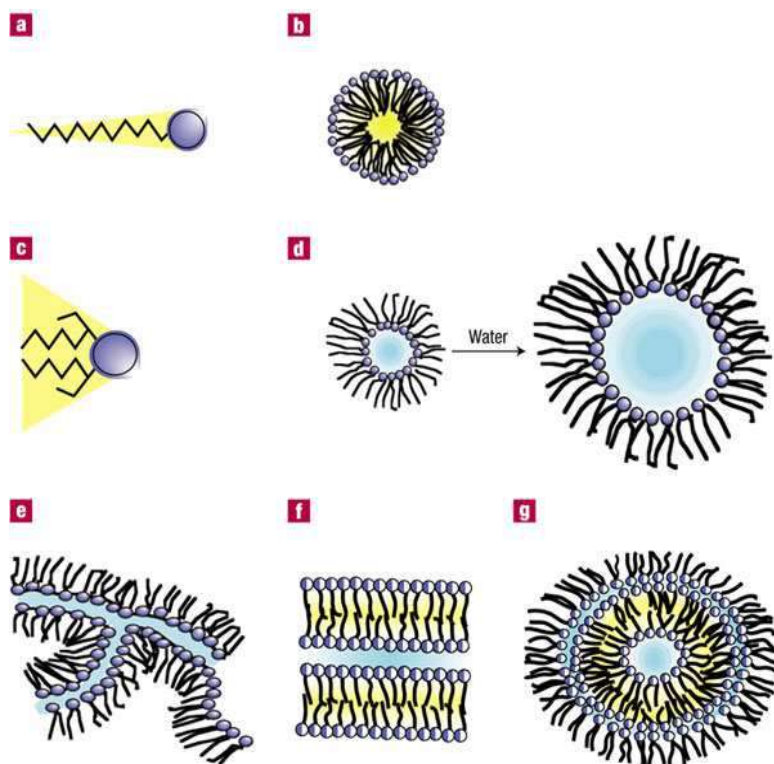


Figura 2 – Representação esquemática das diferentes estruturas agregadas resultantes da auto-associação de surfactantes em soluções coloidais. Representadas em amarelo as fases oleosas e em azul as fases aquosas. a) Surfactante livre em solução; b) Micela; c) Cone em fase oleosa; d) Micela reversa com dimensão controlada pelo conteúdo de água; e) Cilindros interconectados; f) Fase lamelar planar; g) Fase lamelar em forma de cebola. (Pileni, 2003)

As propriedades físico-químicas dos surfactantes são, muitas vezes, tema de discussão entre os especialistas, principalmente no conhecimento de que seus papéis como interlocutores entre duas fases podem ser desempenhados em concentrações muito baixas. Entre o monômero livre em solução e estruturas altamente complexas, uma gama de fases e arquiteturas podem coexistir, sendo reflexo de interações intermoleculares estreitamente ligadas às estruturas dos agentes tensoativos e às condições do meio no sistema onde se encontram (pH, temperatura, outros solutos, etc.). O conhecimento destas estruturas, as razões que regem a formação das mesmas e suas consequências sobre as propriedades físico-químicas irão influenciar nas suas aplicações científicas e tecnológicas (Rosen, 2004).

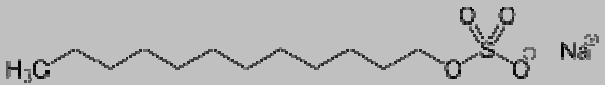
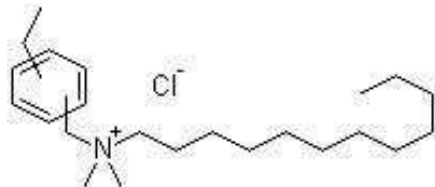
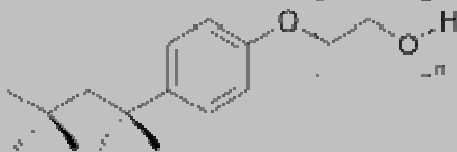
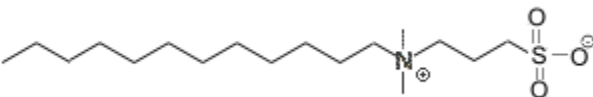
I.2. Classificações dos Surfactantes

Toda essa variedade de arquiteturas e propriedades propiciam também variadas aplicações que envolvem critérios específicos e correlatos, de onde surge o interesse em agrupá-las e classificá-las em diferentes classes, facilitando a identificação dos binômios propriedade-aplicação. Muitas vezes os surfactantes são classificados por sua classe ou estrutura química, de acordo com sua utilização ou até mesmo, com base nas

suas propriedades físicas. No que diz respeito a sua origem, podem ser naturais ou resultado de modificações químicas, de origem petroquímica ou de uma rota inteiramente sintética. Nenhuma destas classificações, entretanto, é totalmente satisfatória, embora as duas primeiras formas de agrupar os surfactantes sejam bastante comuns.

Outra classificação bastante usual dos surfactantes, adotada pela maioria dos autores, baseia-se no caráter iônico de sua porção polar, ou seja, da sua porção hidrofílica. Comumente, tensoativos são divididos nas classes: aniônicos, catiônicos, não iônicos e zwitteriônicos (Tabela 1). Os surfactantes pertencentes a esta última categoria contêm cargas nominais simultaneamente aniônicas e catiônicas (Brandão, 1999). Na literatura, são muitas vezes referidos como agentes tensoativos anfotéricos, mas o termo "anfotérico" nem sempre é correto, requer atenção e não deve ser utilizado como sinônimo de zwitteriônico, visto que anfotérico se refere a uma entidade química que pode, dependendo do meio em que se encontra, ionizar-se positiva ou negativamente.

Tabela 1 – Características estruturais dos surfactantes representantes de cada classe iônica.

Caráter iônico	Surfactante	Estrutura
Aniônico	Dodecil Sulfato de Sódio (SDS)	
Catiônico	Cloreto de dodecil-etil-benzil-dimetilamônio	
Neutro	Polioxietileno (9-10) p-terc-octilfenol (Triton X-100)	
Zwitteriônico	N-dodecil-N,N-dimetilamônio-1-propanosulfonato	

A parte polar de um surfactante pode ser iônica ou não-iônica e a escolha do grupo polar determina em grande parte as propriedades esperadas de um tensoativo. Para surfactantes não-iônicos, o tamanho da cabeça polar pode ser modificado à vontade, para os iônicos, o tamanho desta porção hidrofílica deve ser um parâmetro mais ou menos fixo. De fato, o tamanho relativo entre os grupos hidrofóbico e hidrofílico, e não o tamanho absoluto de um dos dois, é o parâmetro crítico para o comportamento físico-químico de um surfactante em solução. Conceito primeiramente introduzido por Griffin em 1949, e mais tarde revisado, aprimorado e adaptado por

vários outros autores, o balanço hidrofílico-lipofílico (BHL) tem como base a relação entre os tamanhos das duas partes de um agente tensoativo, e é ainda hoje um dos melhores critérios para selecionar um agente tensoativo para alguns casos (Griffin, 1949). O método se baseia na razão entre a massa molecular da porção hidrofílica e a massa molecular total. A classificação segundo o BHL permite alguma previsão do comportamento e reduz o trabalho envolvido na seleção de um surfactante melhor adaptado a uma aplicação requerida, como mostrado na Tabela 2.

Tabela 2 – Aplicações prováveis para surfactantes não-iônicos em relação aos valores de HLB. (Christofi & Ivshina, 2002)

BHL	Aplicações
<3	Filmes de superfície, agente antiespumante
3-6	Emulsificantes de água em óleo (W/O)
7-9	Espalhamento de líquidos em superfícies sólidas
8-15	Emulsificantes de óleo em água (O/W)
13-15	Detergentes
>15	Hidrótropo

Um surfactante geralmente contém apenas um grupo polar. Recentemente, no entanto, nota-se um interesse considerável em encontrar alguns tensoativos diméricos, contendo duas caudas hidrofóbicas e/ou dois grupos polares de cabeça ligados por um espaçador curto. Estas espécies, geralmente conhecidas como surfactantes geminados, ainda não são de importância comercial, mas ganham mais espaço a cada dia com o surgimento de surfactantes geminados que são modelados e sintetizados especificamente para algumas aplicações tecnológicas. Eles mostram várias propriedades físico-químicas interessantes, tais como maior eficiência na redução da tensão superficial em concentrações micelares críticas (CMC) muito baixas (Figura 3). A diferença entre essas concentrações críticas para a formação de micelas de surfactantes monoméricos e diméricos de uma mesma classe pode ser de considerável importância prática (Jönsson, Lindman, Holmberg, & Kronberg, 1998).

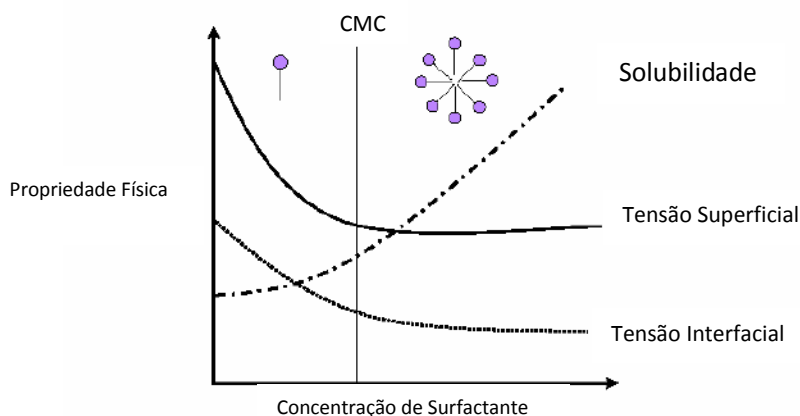


Figura 3 – Solubilidade e tensões superficial e interfacial em função da concentração de surfactante. CMC: Concentração micelar crítica. (Mulligan, Yong, & Gibbs, 2001)

Os surfactantes são ingredientes importantes em muitos produtos industriais e têm um papel proeminente em vários processos industriais. Além do seu papel chave em produtos de limpeza (detergentes, sabões, amaciantes de roupas, entre outros) e de higiene pessoal (xampus, sabonetes, cremes dentais, etc.), os surfactantes, naturais ou sintéticos são usados em quase todos os ramos de produção industrial, como, alimentos, tintas, colas, corantes têxteis, tintas, agentes espumantes e umectantes, dispersantes, fibras, processamento mineral, plásticos, produtos farmacêuticos e agroquímicos. Estas substâncias são ingredientes principais de vários tipos de formulação (pó molhável, concentrado emulsionável, suspensão concentrada, emulsões de óleo em água ou água em óleo, microemulsões, etc), uma vez que interferem nas importantes propriedades físico-químicas do ponto de vista do armazenamento e a aplicação do produto tais como a molhabilidade e a capacidade emulsionante.

I.3.Aspectos Econômicos e Ambientais

Os surfactantes têm importância econômica global. O mercado mundial de surfactantes vivenciou um crescimento de quase 2% em 2009 em relação ao ano anterior, atingindo a cifra de US\$ 24,33 bi. O período entre 2005 e 2008 representou um crescimento contínuo freado apenas pela recessão econômica global em 2009 provocada pela crise financeira nos Estados Unidos. A partir de 2010 até o final de 2011, o mercado de surfactantes assistiu a um crescimento de 2,8%, como resultado da recuperação da economia global forte. O mercado teve um crescimento bastante saudável desde 2010, na previsão, o crescimento de 3,5-4% pode ser esperado para os próximos anos (Acmite Market Intelligence, 2010).

Entre as quatro classes, os surfactantes aniônicos e não-iônicos são os dominantes, responsáveis por dois terços do mercado total de tensoativos em valor. Recentemente, surfactantes não-iônicos têm substituído os aniônicos para se tornar o mais importante tipo de surfactante, figurando com 36% do total de tensoativos utilizados pelo mercado global. Avaliado em US\$ 8,64 bi em 2009, o mercado de surfactantes não-iônicos cresceu 2,4% ao ano desde então, para atingir US\$ 9,27 bi em 2012. Ainda é esperado um crescimento de 3-3,5% anualmente, chegando a US\$ 10,25 bi até 2015 e aumentar para US\$ 11,33 bi em 2018. Os surfactantes aniônicos vinham representando o segmento mais expressivo desde 2000, com um mercado estimado em cerca de US\$ 7,27 bi em 2009, mas que observa continuamente a queda da sua parte do mercado devido a algumas preocupações ambientais, normalmente com a biodegradabilidade de alguns tipos de surfactantes aniônicos. O mercado de catiônicos é de menor importância (Acmite Market Intelligence, 2010).

Estima-se que até 75% dos surfactantes utilizados nos países industrializados tem, atualmente, origem petroquímica. Por exemplo, o detergente comum usado para lavar louça era feito, até a última década do século passado, com surfactantes sintéticos,

sua penetração junto à água no solo tem efeitos que podem durar alguns dias (muitos dos sabões em pó amplamente utilizados em máquinas de lavar roupa contêm altos níveis de substâncias químicas, tais como agentes alcalinos e quelantes que podem causar danos às plantas e ao solo). Alguns surfactantes aniônicos podem ser encontrados no solo após um período considerável de tempo, sendo resultado da aplicação de lodo, de águas residuais da irrigação, da utilização de agentes molhantes de solo e de processos de remediação. Concentrações relativamente elevadas de surfactantes, juntamente com diferentes metais podem representar um risco ambiental importante (Meira, 2007).

No caso do meio aquático, devido à permanente agitação natural, os surfactantes causam a formação de muita espuma, cobrindo a superfície de lagos, rios, redes e estações de tratamento de esgoto, constituindo grave desequilíbrio ao meio. As tentativas de controlar a poluição causada pelos detergentes não biodegradáveis oriundos do petróleo nos meios aquáticos no Brasil só começou onze anos depois dos Estados Unidos e da Europa decidirem pela proibição desses produtos. A Portaria N° 13 da Secretaria Especial do Meio Ambiente (SEMA) do dia 15 de Janeiro 1976 especificava (Gardingo, 2010):

“... as espumas não-naturais devem estar ausentes em águas de todas as classes, independentemente de sua utilização: abastecimento doméstico, irrigação de hortaliças ou plantas frutíferas, recreação, preservação de peixes, navegação ou abastecimento industrial.”

No ano seguinte, em 5 de Janeiro, o Ministério da Saúde promulga nova legislação, Decreto N° 79.094 (Brasil, 1977), essa sim mais efetiva, dando um prazo máximo de quatro anos para que os fabricantes de produtos de limpeza cessassem a comercialização ou importação de produtos saneantes de qualquer natureza contendo surfactante aniônico, utilizando apenas matérias-primas biodegradáveis a partir do início de 1981. Mesmo sob protesto das grandes multinacionais na época, a legislação foi cumprida e termos semelhantes foram adotados pelo mundo a fora. Atualmente, os detergentes produzidos e consumidos no mundo inteiro usam surfactantes de cadeia carbônica linear e, portanto, biodegradáveis (Gardingo, 2010).

A preferência por uma ou outra classe de surfactante em particular também tem evoluído junto com os pontos de vista da ciência, do governo e da sociedade sobre os aspectos ambientais considerados. Algumas análises tomam como base todo o ciclo de produção de um surfactante, levando em conta insumos e energia consumidos durante o processo. Cada processo industrial apresenta suas vantagens e desvantagens. Se por um lado, a produção de lauril sulfonato de sódio (LAS) libera altos níveis de enxofre e óxidos de nitrogênio, e consome mais energia, a produção de dodecil sulfato de sódio (SDS) libera mais monóxido de carbono e gera um aumento dos sais sólidos dissolvidos e suspensos nos efluentes do processo (Kikuchi, Tokai, & Tamao, 1986). Alguns estudos já evidenciam a preocupação dos órgãos governamentais de proteção ambiental com as concentrações de surfactantes no meio hídrico, como reflexo do aumento na

produção mundial de surfactantes das últimas décadas. Somente entre 1940 e 1970, o volume produzido passou de $4,5 \times 10^3$ para $4,5 \times 10^6$ t/ano (Martins & Lima, 2001). O Ministério do Meio Ambiente Holandês, em 1991, classificou o LAS como ativo principal na lista de compostos prejudiciais ao meio hídrico. A presença e o acúmulo de surfactantes nos meios aquáticos provocam, entre outros problemas ambientais, a diminuição da concentração de oxigênio dissolvido na água, diminuição da permeabilidade da luz e o aumento da concentração de compostos xenobióticos, todos, fatores de influência direta na via aquática (Jooste & Thirion, 1999).

A bioacumulação de metais pesados tem sido objeto de estudo em ecossistemas aquáticos apresentando altas concentrações de surfactantes, devido à suspeita de que os mesmos favoreçam esse fenômeno. Um estudo empregando bivalves e peixes como bioindicadores de poluição marinha em Sáez, na Espanha, encontrou valores de 1,29 a 2,98 μg de cádmio/g para o homólogo com onze átomos de carbono na cadeia principal (Leeuwen, 2000). Os indícios vão ainda mais longe, estudos realizados em Cadiz, Espanha, com as algas *Nannochloropsis gaditana* e *Dunaliella salina* mostraram a absorção do próprio surfactante e de seus intermediários de degradação.

Alguns processos microbiológicos são comprovadamente desestabilizados pela presença de surfactantes, por exemplo, a conversão oxidativa da amônia em nitrato por certas bactérias nitrossomas é perturbada pela troca do contra-íon sódio do LAS pelo íon amônio, inibindo a nitrificação no ciclo do nitrogênio e causando a morte desses organismos (Martins & Lima, 2001). Do mesmo modo, os vegetais também sofrem com o acúmulo de surfactantes, uma concentração de 16mg/kg de LAS foi constatada em arroz proveniente de plantações cuja irrigação foi feita com efluente doméstico in natura.

Dentre os quase 40 compostos mais comumente utilizados nas formulações de detergentes domésticos, por exemplo, o SDS e o LAS são, em alguns casos, responsáveis por até 98,8% da elevada taxa de toxicidade verificada através de testes biológicos. Essa toxicidade é, também, efeito do comprimento da cadeia principal. Estudos ecotoxicológicos realizados com o bioindicador *Daphnia magna* mostraram que os homólogos de cadeias maiores têm o maior potencial toxicológico, ou seja, o LAS é mais tóxico que o SDS; isso porque cadeias mais longas são mais dificilmente degradadas e ficam no meio por mais tempo.

Determinados surfactantes já são conhecidos por serem tóxicos para os ecossistemas e animais, incluindo seres humanos. Apesar disso, eles são rotineiramente depositados de várias maneiras nos solos e em sistemas de aquáticos, seja como parte de um processo intencional ou como lixo industrial e doméstico. Alguns surfactantes têm seu uso restrito, tais como os perfluorooctano sulfonato (PFOS), um poluente orgânico persistente julgado pela Convenção de Estocolmo como um perigo ambiental (Canizares & Zini, 2009).

Embora venham sendo utilizados por diferentes indústrias (cosméticos, detergentes, tintas, inseticidas, etc.) há vários anos, só recentemente é que a questão do

seu impacto ambiental se tornou um centro de preocupação dos fabricantes e formuladores. A maioria dos surfactantes de uso doméstico e industrial vai parar nas redes de esgoto. O nível de biodegradabilidade nas estações de tratamento de esgoto permite determinar o volume de surfactantes que são despejados, em última ordem, no ambiente. A combinação dessa biodegradabilidade com o grau de toxicidade aquática de um surfactante determina o impacto do mesmo sobre o ambiente. A Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OCDE) publicou linhas diretrizes e normas relativas à: toxicidade aquática, biodegradabilidade e bioacumulação dos surfactantes, valores que são levados em conta quando uma certificação é dada a um surfactante.

Uma revisão da literatura mostra que, na última década, muitos olhares se voltaram para os surfactantes de origem natural, cujo impacto sobre o meio ambiente parece menor do que de alguns surfactantes sintéticos. A maior preocupação é garantir uma relação desempenho/estabilidade comparável à dos produtos convencionais que usam surfactantes sintéticos, respeitando o meio ambiente. Com relação aos surfactantes convencionais, suas rotas de síntese já foram otimizadas e seus comportamentos físico-químicos são relativamente bem conhecidos, o constante desafio hoje é encontrar formas de minimizar os custos de produção de surfactantes existentes, atendendo as expectativas do mercado para produtos mais ecológicos, essa é a força motriz do desenvolvimento para os próximos anos (Zana & Xia, 2004).

Nesta fatia de mercado, a demanda por surfactantes naturais e biodegradáveis, com baixa toxicidade e menor impacto ambiental vem crescendo desde a última década do século passado. Surfactantes derivados de microrganismos com propriedades físico-químicas de superfície se adequam às aplicações requeridas e, por vezes, tem atividades biológicas que aumentam o interesse por estes. Por exemplo, os soforolípídeos, ramnolípídeos e o manosileritritol são surfactantes ainda pouco utilizados industrialmente, mas com forte potencial em diferentes aplicações. Aplicações cosméticas destes três glicolípídeos são discutidas na literatura e patentes especificamente para os seus benefícios em termos de eficiência e economia já existem (Lourith & Kanlayavattanakul, 2009).

II. Biossurfactantes

II.1. Definições

Para distinguir surfactantes oriundos de fontes petroquímicas daqueles que não se originam do petróleo ou seus derivados, o termo “biossurfactante” foi introduzido no universo da química. A classificação "biossurfactante", contudo, é usada livremente pela comunidade científica, quer seja para designar tensoativos derivados de recursos renováveis por meios químicos (*e.g.* transesterificação para a produção de alquilpoliglicosídeos, APG), quer para classificar biomoléculas com propriedades semelhantes às de um surfactante é produzido por microrganismos. Outros compostos também se encaixam nessa ampla definição, como os metil-sulfonatos de ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME) que são obtidos por transesterificação. O termo biossurfactante tal como utilizado neste trabalho, refere-se amplamente a surfactantes produzidos a partir de fontes biológicas, vegetais ou animais, modificados ou não por processos biotecnológicos durante sua disponibilização ao mercado consumidor (Henkel, et al., 2012).

Ao contrário dos tensoativos derivados do petróleo, que são resultado de síntese química, os biossurfactantes são moléculas, naturalmente ou de uma forma induzida, sintetizadas por organismos vivos, como plantas (*e.g.* saponinas, lecitinas), microrganismos (*e.g.* ramnolipídeos, fosfolipídeos) e até pelo corpo humano (sais biliares). Nestes organismos vivos tais moléculas são, geralmente, metabólitos secundários, exercem sua função em vias metabólicas e têm diferentes papéis biológicos: solubilização e emulsificação de compostos insolúveis em água; transporte dos mesmos através dos compartimentos extra e intracelulares; regulação da dinâmica de fixação/descolamento de microrganismos sobre superfícies; complexação de metais pesados, atividade antibacteriana e antimicótica, etc (Banat, Makkar, & Cameotra, 2000). Nos sistemas biológicos, os surfactantes podem ainda exercer funções vitais como no caso dos fosfolipídeos, principais componentes da bicamada das membranas celulares. Eles também afetam de maneira negativa a viabilidade de diversos microrganismos, na medida em que a presença destes últimos representa potencial competição no ambiente em que o produtor de biossurfactante se encontra (Brandão, 1999).

A utilização de biossurfactantes para fins ambientais é, atualmente, considerada como um dos maiores mercados para esses compostos, já que estes podem ser utilizados na biorremediação de hidrocarbonetos em solo ou água contaminados, na remoção de metais pesados, na "lavagem" do solo ou em acidentes de derramamento de petróleo; aplicações que impulsionaram o desenvolvimento industrial da produção de biossurfactantes. No entanto, a gama de aplicações dos biossurfactantes, incluindo a indústria agrícola e de alimentos, cosméticos e usos farmacêuticos, é tão extensa quanto as suas propriedades. Algumas indústrias que estão usando essa tecnologia atualmente são apresentados na Tabela 3, assim como a função do surfactante usado na respectiva preparação.

Tabela 3 – Biossurfactantes e seus efeitos em cada uma de suas aplicações (Kosaric, 2001).

Aplicação do Biossurfactante	Efeito do Biossurfactante
Metais	
Concentração de minérios	Umectante, formação de espuma
Corte e moldagem	Umectante, emulsificação, lubrificação e inibição de corrosão em óleos de laminação, óleos de corte, lubrificantes, etc
Fundição	
Remoção de ferrugem	Aditivos para liberação do molde Limpeza e decapagem eletrolítica
Tintas e Revestimentos	
Preparação de pigmentos	Dispersantes e umectantes de pigmento durante a trituração
Tintas Látex	Emulsificante, dispersão de pigmento, estabilizante do látex, retardo da sedimentação e separação de pigmento, reologia
Produtos/Produção de Petróleo	
Fluidos de Perfuração	Emulsionante do óleo, dispersante de sólidos, modificação das propriedades reológicas dos fluidos de perfuração para poços de petróleo e gás
Poços de Produção	Emulsificante e dispersante de lodo e sedimentos na limpeza de poços
Produtos Refinados	Dispersante detergente do lodo e inibidor de corrosão em óleos combustíveis, de manivela e de turbinas
Têxtil	
Preparação de Fibras	Detergente e emulsificante na marcação da lã crua; dispersante da viscosa no banho de fiação; lubrificante e antiestático na fiação de filamentos hidrofóbicos
Tingimento, Estampamento e Acabamento Têxtil	Umectante, penetração, solubilização, emulsificação, nivelamento do tingimento, detergente e dispersão; amaciante; lubrificante e aditivo antiestático para acabamentos
Agricultura	
Fertilizantes Fosfatados	Prevenção da aglomeração durante o armazenamento
Pulverização	Umectante; dispersante; suspensão de pesticidas em pó e emulsificação de soluções de pesticidas; dispersão e penetração de substâncias tóxicas
Construção Civil e Obras	
Pavimentação e Concreto	Melhor adesão do asfalto a areia e cascalho; melhor aeração
Elastômeros e Plásticos	
Polimerização	Solubilização, emulsificação de monômeros
Polímeros Expandidos	Introdução de ar, controle do tamanho da célula
Adesivo Látex	Umectante, melhora na adesão
Alimentos e Bebidas	
Frutas e Vegetais	Remoção de pesticidas; limpeza e desinfecção
Panificação e Sorvete	Controle da consistência, solubilização de sabores oleosos, retardo do endurecimento
Cristalização de Açúcar	Redução do tempo de processamento, melhor lavagem
Cozimento de Óleos e Gorduras	Redução dos respingos da mistura óleo superaquecido e água
Limpeza Industrial	
Suprimentos de Manutenção	Detergentes e desinfetantes
Desincrustação	Inibidores de corrosão para a limpeza com ácido de tubulações, caldeiras e trocadores de calor.
Bens Não Duráveis	
	Detergentes para lavanderia e limpeza a seco
Curtume	
Curtimento do Couro	Detergentes e emulsificantes de efeito desengordurante
Tingimento	Promove molhamento e penetração

O interesse em biossurfactantes tem aumentado nos últimos anos devido a essa sua natureza ecológica e possibilidade de produção em larga escala. Estes compostos ainda podem ser utilizados na recuperação acelerada de derramamentos de petróleo, nas formulações de herbicidas e pesticidas, na produção de papel e celulose, carvão, no processamento de cerâmica e até mesmo no processamento de minério de urânio.

Em geral, os biossurfactantes têm as mesmas propriedades físico-químicas dos agentes tensoativos derivados de petróleo; entre elas a elevada atividade interfacial e, portanto, mesmo em baixas concentrações, têm a capacidade de gerar tensões superficiais e interfaciais bastante baixas. Comercialmente, são, com muita frequência, classificados como detergentes, emulsificantes, demulsificantes, solubilizantes e dispersores de fase, entre outros. Contudo, as vantagens dos biossurfactantes vão muito além disso, quando comparados aos seus homólogos de síntese química, eles apresentam como aspectos favoráveis a seu uso (Kosaric, 1992):

- ✓ Maior seletividade e atividade específica: biossurfactantes têm estruturas moleculares específicas que estão ligadas a uma atividade química específica, o que é útil para muitas aplicações ambientais, alimentícias, cosméticos e farmacêuticos;
- ✓ Bioprodutos de fontes renováveis: biossurfactantes podem ser produzidos utilizando matéria-prima barata, tais como resíduos de processos industriais, diversas fontes de hidrocarbonetos, carboidratos e/ou misturas de lipídeos são utilizados, muitas vezes sem necessidade de processos de purificação prévios;
- ✓ Alta estabilidade à salinidade, variações térmicas e de pH: sendo em muitos casos produzidos por microrganismos extremófilos, diversos biossurfactantes têm como característica intrínseca a resistência a essas condições adversas;
- ✓ Biodegradabilidade: produzidos por organismos naturalmente presentes em certos ecossistemas, os biossurfactantes são facilmente degradáveis nos meios aquáticos e nos solos, sendo muito pouco tóxicos para o meio ambiente;
- ✓ Baixa atividade toxicológica: sua alta biocompatibilidade permite o uso pela indústria de alimentos, cosméticos e produtos farmacêuticos com menores efeitos alergênicos.

No sentido mais amplo do termo “biossurfactante”, que simplesmente antagoniza os tensoativos derivados do petróleo, pode-se discriminar três grandes categorias de moléculas segundo a sua origem sintética: 1) metabólitos secundários de origem vegetal; 2) tensoativos que apesar de terem sofrido algumas transformação química têm como origem matérias-primas naturais; 3) moléculas sintetizadas por microrganismos. Cada uma dessas classes será descrita em linhas gerais nas sessões a seguir, assim como suas famílias químicas mais proeminentes.

II.2. Biossurfactantes de Origem Vegetal

II.2.1. Saponinas

As saponinas (Figura 4) são um grupo vasto de moléculas glicosídicas, não voláteis e surfactantes que são amplamente distribuídas na natureza, mas que ocorrem principalmente no reino vegetal. Naturalmente produzidas pelas plantas como metabólitos secundários e cuja função não é, ainda, na maioria dos casos, claramente elucidada, esse grupo de moléculas deve seu caráter singular aos glicosídeos complexos que as compõem. O termo "saponina" é derivado da palavra latina "sapo", que significa sabão, referência à espuma semelhante à do sabão formada por moléculas de saponina agitadas em mistura com água (Vincken, Heng, de Groot, & Gruppen, 2007). A combinação de agliconas apolares com uma ou mais unidades de monossacarídeos presentes em suas moléculas são a causa do seu comportamento semelhante ao do sabão quando em soluções aquosas.

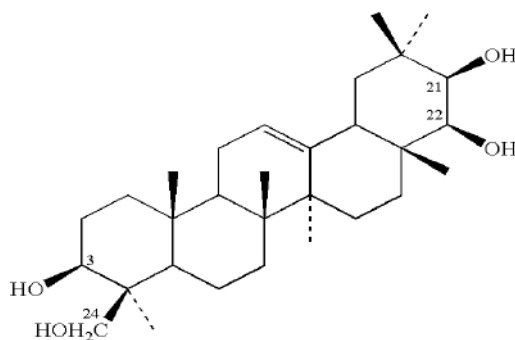


Figura 4 – Exemplo da estrutura de uma saponina com suas agliconas (Christian Dior, 2003).

Esses compostos têm encontrado ampla aplicação em bebidas e produtos de confeitaria, bem como em produtos cosméticos e farmacêuticos. Suas propriedades surfactantes são o que distingue estes compostos de outras moléculas glicosídicas. As saponinas têm sido procuradas pela indústria farmacêutica, por serem, de alguma forma, o ponto de partida para a fabricação das drogas esteroidais semi-sintéticas, além disso, muitas delas têm sido usadas em fitoterapia. Acredita-se que essa classe de moléculas englobe os princípios ativos de muitos vegetais usados como drogas e por medicamentos populares, sendo consideradas responsáveis por numerosas propriedades farmacológicas. Alguns autores consideram saponinas e polifenóis ingredientes-chave na medicina tradicional chinesa, e responsáveis pela maioria dos efeitos biológicos observados (Sparg, Light, & van Staden, 1995).

Além da *Saponaria officinalis* L., uma saponária que tem sido amplamente utilizada ao longo dos séculos como matéria-prima “lavante”, as saponinas são encontradas em muitas outras plantas (sarsaparille, quinoa, ginseng, etc). Esses surfactantes estão presentes nas diversas partes das plantas, raízes, caules, folhas e frutos ou sementes, contudo são mais frequentemente encontrados, em maior

concentração, nos tecidos ricos em nutrientes, como raízes (glicirrizina nas raízes de alcaçuz), tubérculos, flores e sementes. Eles são encontrados principalmente em vegetais como a soja, ervilhas, espinafres, tomate, batata, alho e quinoa. Uma espécie com excepcional produção de saponinas na casca de seu tronco é a quilaia (*Quillaja saponaria*), natural do sul da América Latina. Sendo também encontradas em grandes quantidades em *Gynostemma pentaphyllum*, bem como no ginseng (*Panax* sp) e na salsaparrilha (*Smilax aspera*). Formulações comerciais de saponinas de plantas a partir de sementes de soja (*Glycine max*) e outras fontes estão disponíveis para uso como produtos químicos de laboratório e aplicações biomédicas (Beare-Rogers, Bonekamp-Nasner, & Dieffenbacher, 1992).

II.2.2.Lecitinas

O termo lecitina é uma designação genérica de um tipo de matéria-prima graxa amarelo-acastanhada que ocorre em tecidos de origem animal e vegetal, sendo de fato uma mistura de compostos, entre eles, ácido fosfórico, colina, ácidos graxos, glicerol, inositol, glicolipídeos, triglicerídeos e, principalmente, fosfolipídeos. Foi o químico e farmacêutico francês, Maurice Gobley, que primeiro descreveu, isolou e caracterizou essa matéria-prima. Em 1850, Gobley cita em seu segundo estudo o nome “léchithine” que deriva de λέκιθος (lekithos), vocábulo do grego antigo para gema de ovo, material a partir do qual o cientista isolou a primeira lecitina assim conhecida (Gobley, 1846). Somente duas décadas mais tarde, a fórmula química completa da fosfatidilcolina foi elucidada quando a mesma foi isolada da mistura lecitina, além disso, Gobley demonstrou a presença de lecitina de diversas matérias biológicas, incluindo sangue venoso, bÍlis, tecido cerebral humano, peixes, ovas de peixe, frango e cérebro de ovelha.

Lecitina é atualmente aceito como designação química da fosfatidilcolina (PC, do inglês *phosphatidylcholine*), um fosfolipídeo e o componente mais abundante e mais importante presente na lecitina, e por isso mesmo, na maioria dos contextos, os termos são usados como sinônimos. Esse composto contém principalmente colina, ácido palmítico ou ácido esteárico na posição C-1 e, principalmente, os ácidos graxos de 18 carbonos, como os ácidos oléico, linoléico ou linolênico na posição C-2 (Figura 5). Se essa configuração já permite inúmeros arranjos de ácido graxos e, portanto, de diferentes tipos e comprimentos de caudas apolares, outros representantes dos fosfatidatos são igualmente estudados e permitem através de configurações diversificadas das porções hidrofílicas expandir o espectro de moléculas incluídas na família das lecitinas. São encontrados comumente nas matérias-primas atualmente utilizadas como fontes de lecitina (Wabel, 1998).

Oriundas de diferentes organismos vegetais, as lecitinas têm, também, seu papel biológico no organismo humano. Elas ajudam a prevenir a arteriosclerose, protegem contra doenças cardiovasculares, melhoram o funcionamento do cérebro, ajudam a manutenção do fígado e dos rins, ajudam na absorção de tiamina e vitamina A, e podem até mesmo ajudar a reparar os danos do fígado causados pelo alcoolismo (Zeisel, 2000).

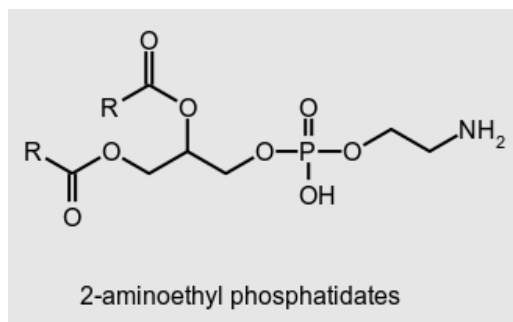


Figura 5 – Representação da estrutura genérica de uma lecitina. Estrutura de uma fosfatidiletanolamina, onde R são cadeias carbônicas derivadas de ácidos graxos (IUPAC, 2006).

Além da produção fisiológica pelo fígado, as lecitinas podem ser obtidas a partir de certas fontes alimentares, principalmente da gema do ovo, do leite, da soja, da canola, do algodão, do girassol e do gergelim. Essa matéria-prima pode ser facilmente extraída quimicamente (usando hexano, etanol, acetona, éter de petróleo, benzeno ou outro solvente orgânico), ou mecanicamente, usando prensas e filtros. Lecitinas têm uma baixa solubilidade em água, mas são excelentes emulsificantes com elevado poder detergente. Em solução aquosa, seus fosfolípidos podem formar tanto lipossomas, quanto bicamadas, micelas, ou mesmo estruturas lamelares, em função da temperatura, da hidratação, do pH, força iônica da solução e da presença de outras moléculas (Jimenez, Scarino, Vignolini, & Mengheri, 1990). Isso resulta de certa forma, no comportamento surfactante apresentado por essas moléculas.

A lecitina é amplamente vendida como um suplemento alimentar e para fins de utilização médica. Em sua forma purificada, os fosfolípidos de cada família são produzidos por empresas como NOF, VAV Life Sciences, Avanti Polar, e têm como líder mundial do mercado a Henry Franc. Ao contrário de suas homólogas de origem sintética, as lecitinas naturais têm a vantagem de poderem ser totalmente biodegradadas e metabolizadas, uma vez que são uma parte integrante das membranas biológicas, tornando-se praticamente não tóxicas ao meio ambiente e aos seres vivos (Fiume, 2001). Apesar da composição bastante complexa, a lecitina é considerada como um composto bem tolerado e não-tóxico (que também é expresso pelo seu estatuto de GRAS -“Geralmente Reconhecido como Seguro” aprovado pela FDA), tornando-o adequado para a ingestão de longa duração e em grandes doses. Como um emulsificante de preparações administradas até por via intravenosa, a sua composição e comportamento determinam a estrutura e a estabilidade da emulsão de um modo crucial. Embora pesquisas extensivas neste domínio tenham sido realizadas, ainda há desacordo sobre a estrutura da emulsão e a influência desse agente emulsificante. É essencial compreender o comportamento de lecitina, a fim de compreender o comportamento de emulsões estabilizadas por elas.

II.3. Biossurfactantes “Sintéticos”

Durante o presente trabalho, referir-se-á a biossurfactantes sintéticos fazendo alusão aos tensoativos que possuem suas subunidades hidrofílicas e lipofílicas derivadas de fontes vegetais e renováveis, sem necessariamente que cada molécula em sua integralidade tenha uma origem única. Referenciados por alguns autores como surfactantes “verdes” ou agrotensioativos, esses compostos, mesmo oriundos de fontes naturais, passam por alguma etapa secundária de modificação química ou bioquímica que lhes conferem esse aspecto, de certa forma, “sintético”. O mercado mundial desta classe de biossurfactantes é talvez o mais dinâmico atualmente, sobretudo com as pressões exercidas sobre a indústria de derivados do petróleo e frente às barreiras de viabilidade econômica que os outros tipos de biossurfactante encontram para se estabelecer definitivamente no cenário mundial (Vandeputte, 2009).

Ésteres derivados de sorbitol e manitol

Tendo sido utilizados já há algumas décadas, os ésteres derivados de sorbitol e manitol são obtidos pela esterificação de seu respectivo polioliol em presença de um ácido graxo ou de uma mistura desses ácidos. Eles são mono-, di-, tri- ou tetraésteres cujo BHL está entre 2 e 8. Estes biossurfactantes são usados em cosméticos ou na saúde animal, na vacinação de suínos, por exemplo (Bertrand, Deville, & Dupuis, 2013).

Alquilpoliglicosídeos (APG)

Obtidos basicamente a partir de glicose e ácidos graxos, os APGs são freqüentemente comercializados como misturas de isômeros nas quais o domínio sacarídico varia de uma a seis unidades de glicose. Os alquilpoliglicosídeos representam hoje um mercado global de mais de 100 mil t/ano cujos atores principais são BASF e Seppic. Eles são utilizados como agentes de formação de espuma ou como emulsionantes, co-surfactantes em detergentes para lavar louça, surfactantes suaves para cuidados e higiene do corpo (cremes, gel de banho) e agentes molhantes para os produtos fitossanitários.

Ésteres derivados de glicosídeo

Os sucro-ésteres são produtos da transesterificação de um açúcar (sacarose) e de ésteres etílicos de ácidos graxos. Inodoros e incolores, os ésteres de glicosídeo são utilizados pelas indústrias de alimentos e de cosméticos. Os sucro-ésteres são emulsionantes de tipo não-iônico e seus BHLs variam com o grau de esterificação: dependendo das condições de reação, obtém-se mono-, di-, tri- ou poliésteres de sacarose. Os mono e diésteres de sacarose, são usadas para estabilizar emulsões diretas

(e.g. produtos lácteos). Já os poliésteres estabilizam emulsões inversas (e.g. margarina). O palmitato de sacarose tem uso particular na preparação microcápsulas usadas no aprisionamento de aromas e em sistema de *drug-delivery*. A produção global de sucroésteres liderada por MCF, DSK, Croda, Sistrena e SKW é de cerca de 6000 t/ano (Vandeputte, 2009).

Ésteres de poliglicerol

Esta gama diversificada de moléculas notavelmente utilizadas pelas indústrias de alimentos e cosméticos são substâncias obtidas pela esterificação de poligliceróis com ácidos carboxílicos de cadeia saturada. Uma vez que os três grupamentos hidroxila da molécula de glicerol podem reagir, o que é na verdade obtido dessa reação de desidratação, é uma mistura complexa de moléculas lineares, ramificadas ou até mesmo com reticulação. Podem também se formar ciclos, moléculas macrocíclicas substituídas, dioxanos, contudo a situação das ligações éster nestes compostos ainda é pouco conhecida. Estas misturas são líquidos intensamente coloridos e viscoso, e sua solubilidade em água depende do grau de substituição e da razão molar de ácido carboxílico/poliglicerol existente. Sua principal aplicação é como emulsificante de água em óleo (W/O) e óleo em água (O/W). Os compostos ainda mais hidrofóbicos deste grupo, tais como o poligliceril-10 decaoleate, podem formar emulsões estáveis do tipo água em óleo.

Existem ainda: as **glucamidas**, que são fabricadas a partir de glicose, metilamina e ésteres metílicos de ácidos graxos, sendo moléculas majoritariamente utilizadas por seu poder detergente, suas propriedades físico-químicas e apelo ambiental semelhantes às dos APGs; os **álcoois graxos e ésteres graxos etoxilados**, que são preparados a partir de um álcool graxo e de óxido de etileno ou propileno e que são excelentes detergentes mesmo à baixas temperaturas, usado pela indústria têxtil; os **α -sulfonil-metil-ésteres**, que são produzidos a partir de ésteres metílicos de ácidos graxos sulfonados, são 100% biodegradáveis, dispõem de um forte poder detergente e podem portanto substituir os LABS em certas aplicações como nos detergentes de louça e sabões em pó; e por último uma nova geração de biossurfactantes **derivados de pentoses**, que são igualmente conhecidos como alquilpolipentosídeos (APP) derivados do processamento industrial do trigo e de frações de hemicelulose cujas propriedades surfactantes começam pouco a pouco a serem investigadas.

Esses surfactantes verdes e renováveis apresentam uma imagem positiva (baixas toxicidade e ecotoxicidade, biodegradabilidade superior à dos surfactantes de origem petroquímica e menor agressividade ao organismo humano) sugerindo que seu *market share* ainda deve crescer bastante nos próximos anos, estando associados principalmente a aplicações de alto valor agregado (Vandeputte, 2009).

II.4. Biossurfactantes de Origem Biotecnológica

Apesar da ampla variedade de biossurfactantes apresentados anteriormente ter seu espaço no mercado, aqueles produzidos por microrganismos parecem ser as moléculas mais promissoras no cenário futuro dos tensoativos de baixo impacto ambiental. Os biossurfactantes biotecnológicos compilam os aspectos positivos das outras famílias pois, assim como os “naturais”, são, por excelência, oriundos de organismos vivos e intrínsecos aos ambientes naturais, e à imagem dos tensoativos “sintéticos de origem natural”, podem ter seus processos de produção operados e controlados em escala industrial (Fiechter, 1992). Os tipos de biossurfactantes de origem biotecnológica, suas respectivas classes químicas e os microrganismos produtores são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 – Tipos de biossurfactante de origem biotecnológica, suas respectivas famílias químicas e principais microrganismos produtores (Desai & Banat, 1997).

Família Química	Biossurfactantes	Microrganismo Produtor
Glicolipídeos	Ramnolipídeos	<i>Pseudomonas</i> sp
		<i>Burkholderia</i> sp
	Trealolipídeos	<i>Rhodococcus erythopolis</i>
		<i>Nocardia erythopolis</i>
		<i>Mycobacterium</i> sp
		<i>Corynebacterium</i> sp
	Soforolipídeos	<i>Torulopsis</i> sp
		<i>Candida</i> sp
	Manosileritritol	<i>Candida antártica</i>
		<i>Pseudozyma</i> sp
Lipopeptídeos e Lipoproteínas	Lipopeptídeos	<i>Bacillus lincheniformis</i>
		<i>Agrobacterium tumefaciens</i>
		<i>Streptomyces sioyaensis</i>
	Cerilipina	<i>Thiobacillus thiooxidans</i>
	Viscosina	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
	Surfactina	<i>Bacillus subtilis</i>
	Subtilisina	<i>Bacillus subtilis</i>
Ácidos Graxos e Fosfolipídeos	Polimixina	<i>Bacillus polymyxa</i>
	Gramicidina	<i>Bacillus brevis</i>
	Ácidos graxos	<i>Corynebacterium lúpus</i>
Surfactantes Poliméricos	Fosfolipídeos	<i>Thiobacillus thiooxidans</i>
	Emulsan	<i>Anthrobacter calcoaceticus</i>
	Biodispersan	<i>Anthrobacter calcoaceticus</i>
	Vesículas	<i>Anthrobacter calcoaceticus</i>
	Lipoproteínas manosídicas	<i>Candida tropicalis</i>
	Liposan	<i>Candida lipolytica</i>
Lipoproteínas hidrocarbônicas	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	

Muitos microrganismos são conhecidos por sintetizar moléculas surfactantes, a maioria deles são leveduras e bactérias, mas alguns fungos filamentosos também têm seu papel nesse ramo. Quando cultivados em presença de carboidratos ou hidrocarbonetos como fonte de carbono, eles sintetizam uma vasta gama de produtos químicos com propriedades surfactantes, tais como glicolipídeos, fosfolipídeos, lipopeptídeos, lipoproteínas e outros. Biologicamente, estes compostos são sintetizados de forma a emulsionar o substrato insolúvel e facilitar o seu transporte para o interior das células onde serão metabolizados (Nitschke & Pastore, 2002).

As classes de biosurfactantes produzidos por microrganismos compreendem um grupo bastante extenso de moléculas estruturalmente diferentes. Uma mesma família de biosurfactante pode ser produzida por microrganismos de diferentes gêneros, desde que as condições do meio de cultura sejam favoráveis para tanto.

A fermentação de biomassa, seja ela da natureza quer for, para produção de biosurfactantes, de um modo geral, é caracterizada por a aplicação do metabolismo microbiano na transformação de uma matéria-prima simples ou mesma oriunda do descarte de outra atividade econômica em produtos de maior valor agregado, neste caso, moléculas com a propriedade de diminuir as tensões de interface e superfície, além de atividades biológicas e antimicrobianas, dependendo de cada caso. O processo de fermentação é controlado (pH, temperatura, agitação, as concentrações de substratos, os precursores e micronutrientes, a taxa de aeração, etc) a fim de manter condições favoráveis para o crescimento do microrganismo e favorecer as vias metabólicas visadas para produção do biosurfactante (Figura 6). Dependendo da natureza química do biosurfactante, do seu microrganismo produtor e da função biológica do mesmo no metabolismo de origem, a produção de biosurfactante por fermentação de biomassa progride sob certas condições (Claus, Haferburg, Hommel, & Kleber, 1986):

- Produção associada de crescimento: neste caso, as fontes de carbono e nitrogênio, a taxa de aeração e a agitação são parâmetros cruciais;
- Produção sob condições limitantes de crescimento: quando as concentrações de nitrogênio ou fósforo são parâmetros limitantes, as relações C/N e C/P no meio de cultura tem um efeito importante sobre o rendimento do processo de produção de biosurfactante, em alguns casos, a limitação de cátions bivalentes, tais como Mg^{2+} , Fe^{2+} ou Ca^{2+} também melhora o rendimento de biotensioativo;
- Produção em estado estacionário de crescimento celular (“Resting”)/não crescimento de células: não há crescimento da população celular, a biomassa microbiana é constante mas elas continuam a produzir biosurfactantes, modo operacional frequentemente usado em culturas de leveduras;
- Produção associada ao aumento da concentração de um precursor: via metabólica depende de um precursor não intrínseco, logo a produção do biosurfactante é proporcional à concentração dessa molécula.

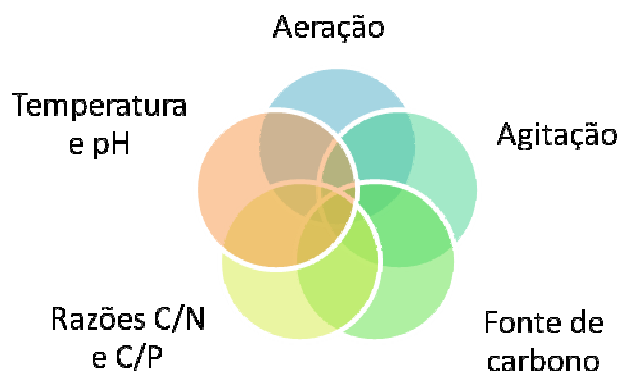


Figura 6 – Ilustração dos principais parâmetros envolvidos nos processos fermentativos de biomassa (Fiechter, 1992).

Durante o processo fermentativo pelos microrganismos, a produção de biossurfactantes é geralmente regulada por um dos seguintes mecanismos (Wagner, Bock, & Kretschmar, 1980):

- Indução: de um modo geral, devido ao seu papel biológico, os microrganismos produzem biossurfactantes quando crescem em meios de cultura contendo substratos insolúveis em água. Assim, o uso de indutores, tais como os ácidos graxos de cadeia longa, hidrocarbonetos ou glicerídeos no meio de cultura aumenta a produção de sofrolipídeos como é o caso de *Torulopsis magnolia* ;
- Regulação catabólica: é feito através do controle da concentração de glicose ou de outros metabólitos primários presentes no meio. As espécies *Actinobacter calcoaceticus* e *A. paraffineus* não produzem biossurfactante quando o crescimento é feito em presença de glicose e ácidos orgânicos, respectivamente.
- Efeito da fonte de nitrogênio e de cátions multivalentes: sais de amônio e ureia tem sido citados como uma fonte de nitrogênio preferidas no caso de *Pseudomonas aeruginosa*, no entanto, em culturas de *A. paraffineus* RC-II, amônia e glutamina em altas concentrações reprimem a síntese do biotensioativo. Além disso, um meio limitante em cátions multivalentes resulta na superprodução de biossurfactante em culturas de *Pseudomonas spp.*

A grande dificuldade em encontrar o equilíbrio ideal entre os componentes usados no processo de fermentação, a otimização das condições de operação do processo, bem como os aditivos necessários ao “controle” do crescimento microbiano e da produção de biossurfactante têm estimulado a pesquisa nessa área do conhecimento. Reduzir os custos do processo e aumentar a produção de biossurfactante, considerando ou não o uso da engenharia genética, bem como encontrar métodos de purificação mais eficientes são importantes desafios a alcançar em um futuro próximo para fazer dos biossurfactantes uma realidade industrial.

II.4.1. Ramnolipídeos

Os ramnolipídeos (Figura 7) compõem uma família de moléculas glicolípídicas aniônicas de origem bacteriana. Formados por uma ou duas cadeias de L-(+)-ramnose ligadas a unidades de ácidos β -hidroxialcanóicos (Nitschke, Costa, & Contiero, 2011), esses compostos foram descritos pela primeira vez como “glicolipídeos oleosos”, na verdade, uma mistura complexa de homólogos (Bergström, Theorell, & Davide, 1946), mas que só tiveram sua estrutura química exata revelada três anos mais tarde (Jarvis & Jhonson, 1949). Mesmo antes de elucidar com certeza a estrutura dos ramnolipídeos, estes já eram usados em processos de biorremediação de solos contaminados com óleos e metais pesados (Hemminger, 2005). O comprimento das cadeias carbônicas da porção β -hidroxi-acil pode variar significativamente e, por isso, os métodos analíticos avançados já permitiram a descrição na literatura de 60 congêneres diferentes de ramnolipídeos com cadeias C_8 , C_{10} , C_{12} e suas formas insaturadas. Essa é a família de biosurfactantes para qual a maior parte da documentação no domínio está disponível, inclusive estudos sobre as rotas biosintéticas, regulação genética e bioprocessos.

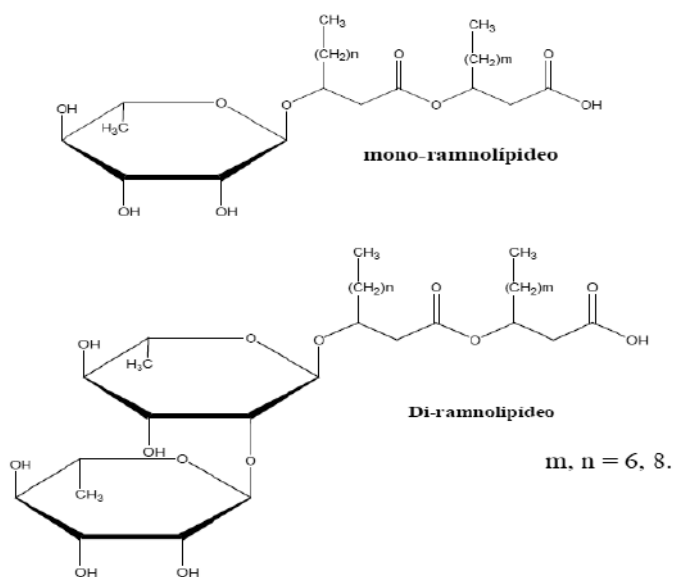


Figura 7 – Representação das estruturas genéricas dos mono- e di-ramnolipídeos, onde $m, n = 6, 8, 10, 12$ ou $12:1$ (Soberón-Chavéz, Lépine, & Déziel, 2005).

A espécie *Pseudomonas aeruginosa* é citada como maior produtora de ramnolipídeos, não por acaso, alguns trabalhos mostram que produtividades superiores a 100 g/l podem ser alcançadas. Contudo, a biossíntese de ramnolipídeos não é exclusividade de *P. aeruginosa*. Outras incluindo os patógenos *Burkholderia pseudomallei* e *B. thailandensis*, um cepa de *Pantoea* sp. isolada na Antártica, *Pantoea stewartii*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Enterobacter asburiae* e *E. hormaechei*, *Nocardioides* sp. e *Pseudoxanthomonas* sp. foram relatados como sintetizadores desses biosurfactantes (Nitschke, Costa, & Contiero, 2011). O espectro de moléculas produzidas varia de espécie para espécie e depende igualmente do meio de cultivo em

que os microrganismos se encontram, e, por conseguinte, as propriedades físico-químicas apresentadas pela matéria-prima (Henkel, et al., 2012).

Os ramnolipídeos apresentam valores de BHL entre 4 e 6, e propriedades surfactantes remarcáveis, a redução da tensão de superfície em uma solução aquosa é alterada de 72 mN/m para 30 mN/m e a tensão interfacial entre hexadecano e água decresce para cerca de 1 mN/m, enquanto que a CMC varia de 10 a 200 mg/L, dependendo do perfil de homólogos presentes (Syldatk, Lang, Wagner, Wray, & Witte, 1985). De um ponto de vista biológico, eles também apresentam atividade antimicrobiana bastante considerável contra fungos filamentosos (*Phytophthora infestans*, *Phytophthora capsici*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium graminearum*, *Mucor spp.*), bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Clostridium perfringens*) e Gram-negativas (*Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*), entre outros microrganismos.

Esses compostos possuem ainda um mecanismo de atividade antioxidante capaz de inibir a adesão de microrganismos patogênicos sobre superfícies sólidas ou locais de infecção, impedindo a formação de biofilmes, sendo também úteis em saúde humana (Cortés-Sánchez, Hernández-Sánchez, & Jaramillo-Flores, 2013).

A gama de aplicações dos ramnolipídeos, incluindo meio ambiente, agronegócios, os setores alimentar, cosmético e farmacêutico, é tão extensa quanto suas propriedades. O uso na biorremediação de solos e águas contaminadas por derramamento de hidrocarbonetos é, sem dúvida, o maior mercado desses biossurfactantes, porém sua utilização no tratamento de metais pesados e no ramo da mineração já existe, ainda que em menor escala (Nitschke, Costa, & Contiero, 2011). As propriedades comprovadas dos ramnolipídeos, tais como a formação da emulsão e de estabilização, são potencialmente úteis no processamento de alimentos e formulações; as atividades anti-adesiva e antimicrobiana também pode ser exploradas pela indústria de alimentos. Na panificação e preparação de sorvetes, esses biossurfactantes agem no controle da consistência, retardando o endurecimento e ajudando na solubilização de óleos aromatizantes; eles também são utilizados como estabilizadores e agentes anti-espalhamento durante o cozimento de óleos e gorduras. Por exemplo, a estabilidade da massa, textura e volume, bem como a conservação de produtos de panificação, pode ser melhorada pela adição de agentes surfactantes como os ramnolipídeos. Além disso, a combinação de nisina e natamicina com ramnolipídeos foi avaliada positivamente para o aumento da vida de prateleira e para inibir o crescimento microbiano em leite de soja UHT, molhos de salada e queijo cottage. Considerando essas propriedades importantes para um biossurfactante, podemos antecipar a sua futura utilização como ingredientes polivalentes simultaneamente exibindo poder emulsificante, de anti-aderência, e atividades antimicrobianas que podem torná-los particularmente valiosos para muitas aplicações alimentares (Nitschke & Costa, 2007).

A utilização de ramnolipídios no setor da cosmética e na indústria farmacêutica como emulsionantes, agentes de penetração e em sistemas de *drug-delivery* é uma área emergente de pesquisa, onde diversas patentes já estão depositadas, apesar de nenhum produto estar comercialmente disponível. Nesses setores industriais no entanto, um problema sobre a produção e comercialização de ramnolipídeos é o fato de *P. aeruginosa* ser um organismo patogênico oportunista. Enquanto isso, em setores como produtos de limpeza e fertilizantes, onde essa patogenicidade não é tão relevante, várias aplicações já estão patenteadas, no entanto os níveis de glicolipídeos produzidos industrialmente ainda são muito mais baixos do que a produção em grande escala de um detergente. Apesar dos obstáculos industriais encontrados por esses glicolipídeos, eles já estão sendo aplicados comercialmente em uma formulação de um biofungicida, ZONIX™, Jeneil Biosurfactant Company, Saukville, WI, USA (Henkel, et al., 2012).

Várias estratégias podem ser seguidas visando a otimização da produção ramnolipídeos a fim de torná-la uma realidade industrial. Os principais objetivos destas estratégias giram em torno de eixos de desenvolvimento bastante específicos: (a) Atingir concentrações mais altas de ramnolipídeo sem o uso de anti-espumantes químicos. (b) Produção de ramnolipídeos provenientes de fontes renováveis, para evitar custos elevados de substrato. (c) Controlar a composição em ramnolipídeos do produto de fermentação a fim de obter produtos puros individualmente em vez de misturas de compostos. (d) Estabelecimento de cepas não-patogênicas para a produção ramnolipídeos. (e) Biocatálise para a produção de novos ramnolipídeos ou matérias-primas não usuais. Estas estratégias, mesmo que diferentes, são as bases comuns para o desenvolvimento da próxima geração de ramnolipídeos.

II.4.2. Soforolipídeos

Soforolipídeos são compostos biotensoativos sintetizados por um número variado de espécies de levedura, em sua maioria não patogênicas. Descritos pela primeira vez em 1961, estes glicolipídeos tiveram sua estrutura (Figura 8) completamente elucidada como uma mistura das formas ácidas e lactônicas de dímeros de sofrorose ligados a um ácido 17-L-hidroxicarboxílico de cadeia longa. O grau de acetilação da molécula e a composição em ácido graxo dependem da cepa produtora e das condições de cultivo, mas o ácido 17-L-hidroxioléico é a porção lipofílica mais comumente encontrada nas moléculas de sofrorolipídeo (Hirata, Ryu, Igarashi, Nagatsuka, Furuta, & Sugiura, 2009).

Com estruturas diversificadas, essa família de biossurfactantes apresenta diferentes propriedades físico-químicas e biológicas; as formas lactônicas mostram maior redução na tensão superficial, enquanto as formas ácidas têm maior habilidade em formar espuma ao mesmo tempo que são mais solúveis em água. Recentemente, descobriu-se que a presença de grupamentos acetil pode diminuir a hidrofobicidade da molécula e aumentar o efeito de estímulo que as mesmas exercem sobre as citocinas, que cadeias longas de ácidos graxos geram sofrorolipídeos de menor CMC, e que além

disso sua biodegradabilidade é diretamente influenciada pelo comprimento dessas cadeias lipídicas. Adicionalmente, várias novas propriedades biológicas vêm sendo atribuídas aos sofrorolipídeos pela literatura, atividades que vão da antibacteriana ao anti-virulência do HIV, passando pela indução à apoptose celular e propriedades anticarcinogênicas (Ma, Li, & Song, 2012).

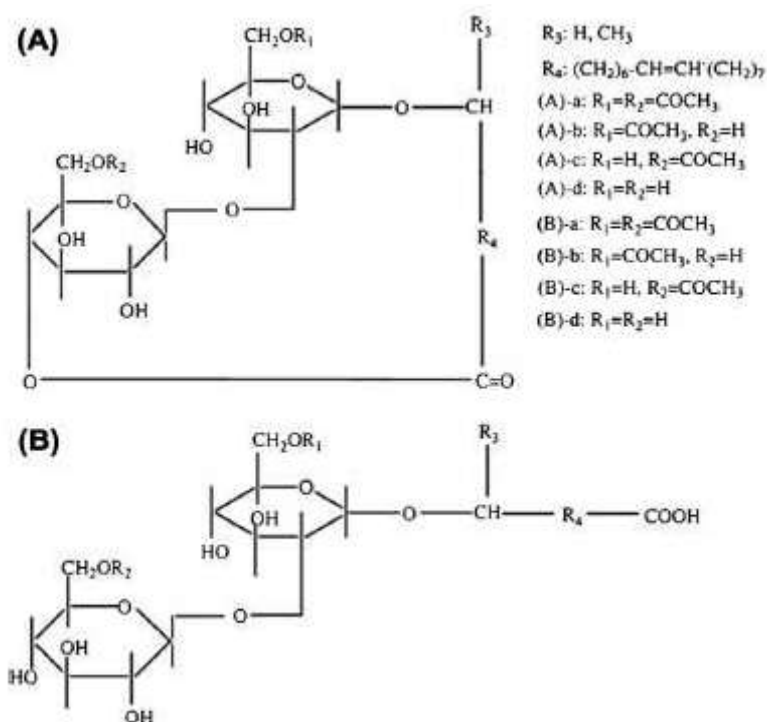


Figura 8 – Exemplo da estrutura genérica de um sofrorolipídeo: (A) em sua forma de lactona e não-iônica; (B) em sua forma ácida e aniônica (Ma, Li, & Song, 2012).

A produção desses compostos se dá pelo cultivo das leveduras em substratos variados; carboidratos, óleos vegetais, gordura animal e fontes de biomassa descartadas por outros domínios industriais. Os principais relatos na literatura são dessa produção sendo feita por *Candida bombicola*, *Candida lipolytica*, *Candida apicola*, *Torulopsis magnoliae*, *Torulopsis bombicola*, *Wickerhamiella domercqiae*, mas existem outras espécies que apresentam igualmente esse potencial. Dependendo das condições de cultivo, os rendimentos podem ser bastante elevados (400 g/l produzidos por *C. Bombicola* ATCC 22214 em óleo de milho), tornando esses microrganismos atrativos para a produção industrial e comercialização desses biossurfactantes (Van Bogaert, Zhang, & Soetaert, 2011). Estudos mostraram que a biodegradabilidade de um extrato de sofrorolipídeos chega a 100% após 28 dias usando água fluvial como matriz, enquanto que um surfactante derivado de petróleo mais comumente usado tem, nas mesmas condições de teste, degradabilidade próxima de 30% (Ma, Li, & Song, 2012).

De um ponto de vista biológico, reporta-se que os sofrorolipídeos apresentam irritação dérmica extremamente fraca, baixa toxicidade contra fibroblastos humanos e queratinócitos humanos da linhagem HPK II, mesma em concentrações efetivas em

solução como suas CMCs. Apesar dessa potencial predisposição para a aplicação tópica, esses biossurfactantes sofrem de uma dualidade não tão simples, possuem alto poder detergente, mas produzem uma espuma de má qualidade e pouco estável (Hirata, Ryu, Igarashi, Nagatsuka, Furuta, & Sugiura, 2009). A lista de patentes sobre o uso de soforolipídeos em diversos ramos industriais, sobretudo produtos de limpeza, higiene pessoal, farmacêuticos e cosméticos cresce a passos largos, esperando apenas a otimização dos processos de fermentação e/ou modificações genéticas que melhore a produção.

No setor de cosméticos, os soforolipídeos já são os biossurfactantes mais utilizados. Combinados a propilenoglicol e lipases, esses tensoativos vem sendo empregados como hidratantes em produtos para a pele como cremes e maquiagem. Um produto comercial contendo 1 mol de soforolipídeos e 12 moles de propileno glicol mostrou excelente compatibilidade dermatológica, podendo ser usado como um creme hidratante facial (Desai & Banat, 1997). Alguns soforolipídeos são usados como umectantes para incorporação em produtos de maquiagem. O KAO Co. Ltd. desenvolveu um processo de fermentação para a produção de soforolipídeos que, subsequentemente, são submetidos a esterificação, o que resulta em um produto com aplicação indicada em batons e como hidratante para a pele e cabelo (Yamane, 1987).

II.4.3. Classes Químicas Emergentes

Leveduras e fungos filamentosos dos gêneros *Pseudozyma* e *Ustilago* sintetizam em abundância lipídeos de **manosileritritol** (MEL), uma mistura de quatro compostos; MEL-A e MEL-B como componentes majoritários, MEL-C e Mel-D como produtos secundários em menor concentração (Figura 9). A cadeia principal dessas moléculas é um dissacarídeo manose-eritritol ao qual cadeias de ácidos graxos curtos (2 a 8 átomos de carbono) ou longos (10 a 18 átomos de carbono) estão ligados (Kitamoto, Isoda, & Nakahara, 2002). Os lipídeos de manosileritritol podem reduzir as tensões superficiais em uma solução aquosa a valores próximos de 35 mN/m, ao mesmo tempo que mostram versatilidade em suas atividades bioquímicas, incluindo complexação protéica com imunoglobulinas G e lectinas, e mecanismos ainda não tão bem elucidados de indução à diferenciação de diferentes células de mamíferos. MEL-B, especificamente, mostra seu potencial de aplicação na indústria de cosméticos em produtos de *skincare* devido a sua atividade hidratante comparável à da ceramida natural tipo III. Além disso, testes usando modelos tridimensionais de culturas de células humanas mostram claramente a recuperação da viabilidade de células previamente fragilizadas por tratamento com SDS e o funcionamento como barreira para a perda de água por transpiração transepidérmica (Yamamoto, et al., 2012).

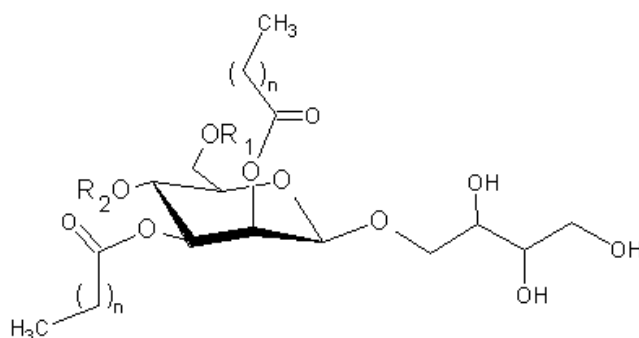


Figura 9 – Representação das estruturas genéricas das principais moléculas de manosileritritol. Onde $n = 6-12$, Mel-A : $R_1 = R_2 = \text{acetil}$, Mel-B : $R_1 = \text{acetil}$ e $R_2 = \text{H}$, Mel-C : $R_1 = \text{H}$ e $R_2 = \text{acetil}$, Mel-D : $R_1 = R_2 = \text{H}$ (Kitamoto, Haneishi, & Nakahara, 1990).

Um outro grupo importante de glicolípídeos surfactantes é formado pelos **trealolípídeos**, conhecidos por ser produzidos por vários microrganismos pertencentes ao grupo dos micolatos, tais como os gêneros *Mycobacterium*, *Rhodococcus*, *Arthrobacter*, *Nocardia* e *Gordonia*. Diferentes estruturas foram elucidadas particularmente para o gênero *Rhodococcus* (Figura 10), possuindo cadeias de ácido micólico ligadas a uma trealose (α -1,1-diglicose) por seus carbonos C6 e C6'. A espécie *Rhodococcus erythropolis* foi caracterizada como um produtor de misturas complexas de agentes surfactantes que continuam ligados à célula porque estão intimamente associados à estrutura da parede celular (Lang & Philp, 1998). A composição majoritária dessas misturas é normalmente um *blend* de micolatos de trealose, contudo, condições de cultivo limitadas em nitrogênio acarretam a produção de tetraésteres aniônicos de trealose.

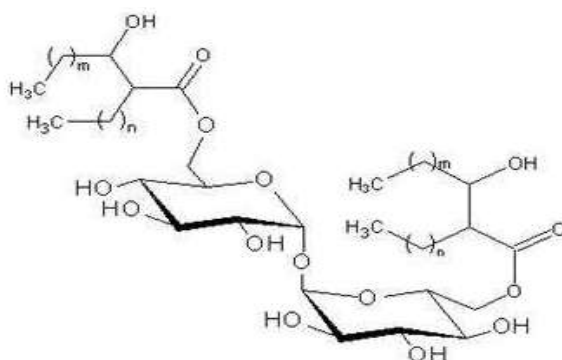


Figura 10 – Representação da estrutura genérica de uma molécula de trealodicorinomicolato, um trealolípídeo produzido por *Rhodococcus erythropolis* DSM 43215. $n + m = 27$ to 30 (Ghent University, 2009).

Essa classe de glicolípídeos já foi reportada na literatura como detentora de propriedades antivirais, como excelentes inibidores e indutores de diferenciação celular do sistema imunológico humano contra células leucêmicas, além das atividades imunomoduladora e antimicrobiana. Os trealolípídeos encontram aplicações emergentes nos domínios da indústria biomédica, geralmente em razão da suas interações particulares que formam com os fosfolípídeos, principais componentes das membranas

celulares. O fenômeno de fluidização dessas supra-estruturas fosfolipídicas aponta essa família de biossurfactantes como elementos bastante úteis na criação de modelos de permeabilização de membranas celulares (Ortiz, Teruel, Manresa, Espuny, Marqués, & Aranda, 2011).

Diversas espécies de leveduras, bactérias e fungos filamentosos, principalmente devido a sua capacidade de usar n-alcanos como fonte de carbono, secretam um largo espectro de biomoléculas surfactantes que têm por função a biodisponibilização dessas fontes de carbono não “usuais” para o catabolismo. Todo esse mecanismo metabólico alternativo, quando acionado, produz concentrações mais expressivas de **lipopeptídeos** e **lipoproteínas**, moléculas formadas por sequências cíclicas de peptídeos ligadas a ácidos graxos. Várias bactérias são conhecidas por produzir essas moléculas que mimetizam antibióticos, entre eles o mais investigado é o *Bacillus subtilis*, que produz três famílias desses compostos não-ribossômicos, as fengicinas, as iturinas e as surfactinas (Figura 11). Estas últimas são alguns dos mais poderosos biossurfactantes conhecidos, reduzindo a tensão superficial de 72,8 para 27,9 mN/m a uma concentração de 0,005% (Arima, Kakimura, & Tamura, 1968). Os lipopeptídeos possuem estruturas variadas, as cadeias hidrofóbicas podem ser β -hidroxi (fegicinas e surfactinas) ou β -amino (iturinas) ácidos graxos, enquanto que o anel peptídico contém sete (iturinas e surfactinas) ou dez aminoácidos (fengicinas). Ambas, iturinas e fengicinas são principalmente conhecidas pelas atividades antimicóticas, enquanto que as surfactinas possuem propriedades antibacterianas e antivirais. Quando as diferentes famílias são coproduzidas, suas interções podem se tornar sinérgicas e aumentar suas atividades respectivas. No domínio biológico, os lipopeptídeos demonstraram em várias espécies respostas imunes humorais (Malfanova, Franzil, Lugtenberg, Chebotar, & Ongena, 2012).

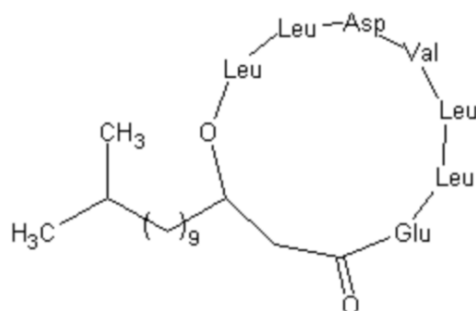


Figura 11 – Estrutura da surfactina, lipopeptídeo produzido pelo gênero *Bacillus* (Ghent University, 2009).

Por fim, existem os **biossurfactantes poliméricos** que são estruturas bem mais complexas, construídas a partir de vários componentes. O Emulsan (Figura 12), sintetizado e excretado por *Acinetobacter calcoaceticus*, é o mais explorado na literatura e possui representantes disponíveis comercialmente para uso como surfactante (Rosenberg, Rubinovitz, Legmann, & Ron, 1988). Outro exemplo comercial é o Liposan, um complexo de carboidrato (83% w/w) e proteína (17% w/w) sintetizado pela

levedura *Yarrowia lipolytica*. Essas macromoléculas são constituídas por uma cadeia principal heteropolissacarídica à qual os ácidos graxos saturados ou insaturados possuindo de 10 a 18 átomos carbono são covalentemente ligados através de O- ou N-acil. Visto que essas cadeias laterais de ácidos graxos conferem o caráter hidrofóbico do sistema, métodos que regulam a natureza dessas cadeias lipídicas através da alimentação adequada dos processos fermentativos permitam a manipulação do BHL dessas estruturas (Cirigliano & Carman, 1984).

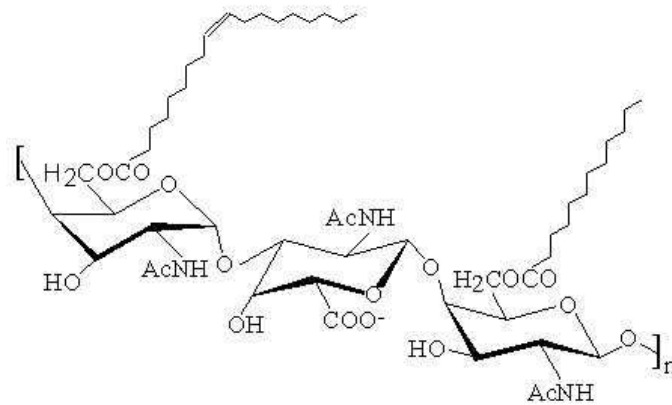


Figura 12 – Estrutura da cadeia polimérica de Emulsan (Zhang, Gorkovenko, Gross, Allen, & Kaplan, 1997).

Estudo de Caso

Validação do Interesse de uma Empresa de Cosméticos por Novas Matérias-Primas Surfactantes de Origem Natural

III. Estudo de Caso

III.1. Escopo do Projeto

Os últimos anos vivenciaram progressos significativos no campo da biotecnologia. Novas técnicas de fermentação microbiana, biotecnologia vegetal, engenharias genética e metabólica permitem, nos dias de hoje, a fabricação de biomoléculas inovadoras de famílias químicas bastante diversificadas. Em face deste aumento da oferta de arquiteturas moleculares, algumas cumprem seus papéis óbvios como surfactantes, enquanto outras, mesmo com potencial, são menos bem sucedidas nessa aplicação.

O interesse crescente do mercado consumidor por produtos mais “naturais”, com menos compostos sintéticos ou derivados do petróleo e, sobretudo com baixo impacto ambiental vem obrigando, de certa forma, a indústria de cosméticos, assim como outros domínios industriais, a prestar mais atenção nessas novas biomoléculas. O grande desafio se apresenta quando é necessário selecionar uma nova matéria-prima na qual investir, investimento esse que pode chegar à casa dos milhões de dólares e envolver várias esferas da corporação.

Um projeto de substituição de surfactantes, compostos que constituem o cerne de uma formulação cosmética, é um empreendimento que compromete equipes de pesquisa e desenvolvimento (P&D) por períodos que podem chegar a cinco anos, tempo necessário para que um novo produto chegue às prateleiras. É necessário avaliar e analisar vantagens e desvantagens do uso dessa nova tecnologia em cosméticos. Algumas perguntas são particularmente interessantes de serem respondidas:

✓ As reivindicações dos fornecedores são confiáveis, em outras palavras, as matérias-primas mantêm suas propriedades surfactantes/emulsionantes ao mesmo tempo em que cumprem as expectativas em relação ao impacto ambiental e às certificações?

✓ Para um surfactante cuja família é notória, quais as vantagens deste novo surfactante que justificariam o investimento em P&D de suas aplicações?

✓ Os surfactantes com estrutura diversificada criam fórmulas verdadeiramente inovadoras? A sua aplicação pode ser estendida para outros segmentos do negócio?

Resultado do trabalho em um centro de P&D de uma multinacional da indústria de cosméticos, este estudo de caso se propõe a ilustrar como uma corporação deste porte opta ou não pela incorporação de novas moléculas surfactantes a seu portfólio de matérias-primas usando um método de seleção de novos compostos aqui apresentados. O projeto se constitui de um estudo prospectivo de biosurfactantes, tensoativos naturais e também matérias-primas que poderiam desempenhar esse papel tendo em vista suas estruturas moleculares, mesmo que não sejam reputadas por essa aplicação. O estudo evidencia os diferentes aspectos que impactam a escolha por essas biomoléculas nos níveis econômico, científico e estratégico.

III.2. Materiais e Métodos

III.2.1. Seleção de Matérias-Primas

Esta etapa do projeto constituiu-se de um vasto estudo técnico-comercial sobre as diferentes matérias-primas comercialmente disponíveis cujas estruturas químicas sugeriam sua potencial utilização como surfactantes e outras que já apresentavam esse uso de forma notória. Um levantamento da base de dados de matérias-primas oferecidas à empresa pelos fornecedores cadastrados e que se enquadram na classe dos biosurfactantes gerou uma tabela com aproximadamente 70 referências de produtos. Todas essas referências foram classificadas de acordo com a família química a qual pertencem, ionicidade, nome INCI europeu, nome comercial, fornecedor, origem química ou bioquímica, aplicações cosméticas conhecidas, se houverem, apresentação física (líquido, sólido, pó,...) e resultados de estudos internos da pesquisa aplicada. A partir dessa base de dados foram selecionados os representantes da cada família química mais adequados a participar do planejamento experimental.

III.2.2. Planejamento Experimental

As formulações cosméticas são geralmente resultados da mistura de uma gama tão diversificada de compostos que a estrutura complexa criada é impossível de ser modelada, mesmo se as observações são muito numerosas e técnicas analíticas aplicadas, bastante sofisticadas. Portanto, o uso de um planejamento experimental pode ser particularmente adequado para a abordagem de regras mais gerais de formulação.

O planejamento experimental é uma seqüência ordenada de estudos elementares em uma via de experimentação de interesse. O plano faz parte de um método que procura desenvolver o conhecimento sobre o campo onde ele é aplicado, usando a própria definição precisa dos objetivos e, finalmente, a estratégia experimental. Este método é indispensável, sempre que os sistemas têm certa complexidade, o risco de falha é alto (dados não utilizáveis), ou dispêndio econômico é importante (tempo de resposta), por exemplo. O planejamento de experimentos é uma ferramenta que permitem a coleta de dados passíveis de modelagem de maneira suficientemente precisa e com uma boa economia. Eles oferecem uma alternativa simples e eficaz para reduzir custos e aumentar a robustez de estudos experimentais na concepção e validação de um produto ou matéria-prima.

A abordagem clássica do planejamento experimental prevê a seleção de alguns pontos colocados nas bordas do universo de estudo e alguns pontos no centro, deixando grandes áreas inexploradas. Se os fenômenos observados têm comportamento linear nessas áreas, a modelagem é bastante satisfatória, mas tão logo fenômenos abruptos aparecem (transições de fase, sinergia entre componentes, zonas de metaestabilidade ou instabilidade), as respostas não são suficientemente informativas para uma modelagem confiável. O método utilizado neste estudo faz a seleção dos ensaios, dentre todos os pontos possíveis, escolhendo os pontos de modo bem distribuído por todo o domínio

experimental. Com base em métodos matemáticos e estatísticos, a seleção dos experimentos, utilizando o hipercubo latino, que ajudou a organizar o plano de modo a determinar, em um mínimo de experimentação e com máxima precisão, a influência dos diferentes fatores controlados a fim de otimizar o desempenho de um posterior projeto de modelagem. Assim, todas as tendências possíveis de comportamento das variáveis tornar-se-ão bastante elucidáveis a partir de técnicas de modelagem e são capazes, nas áreas melhor delimitadas, de definir as sinergias esperadas mesmo para os testes que não foram realmente realizados.

Tendo em vista o objetivo mais amplo de maximizar as aplicações dos novos surfactantes estudados para os diversos segmentos da indústria de cosméticos, os parâmetros que definem as composições de cada ensaio foram expandidos aos limites de interesse de acordo com as matrizes de pontos bem distribuídas em todo o domínio experimental. Abaixo estão especificados os parâmetros que delimitaram as configurações dos pontos experimentais:

- Para os 14 surfactantes selecionados (item III.2.1), as concentrações variaram entre cinco níveis igualmente distribuídos no intervalo de 1% a 5% da massa total. Participaram do planejamento experimental isoladamente ou combinados aos pares, de forma que a concentração máxima de surfactante na preparação não excedeu 10% da massa total.
- A concentração de conservante, a saber, uma mistura 1:1 de metilparabeno e etilparabeno, foi fixada em 0,2% da massa total para todos os ensaios, exceto para preparações anidras em que o conservante não foi necessário.
- Um agente gelificante (goma xantana) podia estar ausente ou presente em concentrações de 0,4% e 0,8% da massa total.
- A fim de simular as condições de viscosidade, dureza e carga de particulados insolúveis encontradas nas preparações do segmento de maquiagem, incluíram-se no planejamento experimental concentrações de cera (cera de abelha) e insolúveis (talco), as quais variaram entre os níveis 0%, 5%, 10% e 25% da massa total.
- A fase graxa foi representada por um dos três óleos selecionados a partir de uma escala crescente de polaridade (δ_a)¹, esqualano vegetal (0,0), óleo vegetal de jojoba (3,3) e dicaprilil carbonato (6,0), respectivamente, respeitando as razões mássicas de 0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 e 1,0 entre as fases graxa e aquosa.
- A fase polar definida como QSP em massa, foi de 100% de água ou 100% de glicerol, nunca combinação dos dois.

A análise dos dados foi posteriormente realizada com a ajuda de um software interativo de visualização gráfica de dados. Entre outras funcionalidades, o software permite que gráficos 2D e 3D possam ser criados usando qualquer parâmetro atribuído

¹A polaridade (δ_a) das moléculas de óleo é uma grandeza média adimensional que leva em conta os parâmetros de solubilidade de Hansen (δ_d , δ_p , δ_h) calculados pela contribuição dos grupos constituintes da molécula. $\delta_a = \sqrt{\delta_p^2 + \delta_h^2 + \delta_d^2}$. Referência: Base de dados Físico-química de solventes do Laboratório interno de Físico-química.

contra outro, além disso, é possível a adição de filtros múltiplos simultaneamente, permitindo o foco e a identificação de áreas ou comportamentos específicos.

O Apêndice 1 ilustra o planejamento experimental, mostra as concentrações de cada matéria-prima reduzida aos níveis de base associados a cada uma das ferramentas de dosagem. O método do hipercubo latino gerou 300 pontos de projeto experimental, resultando em 300 formulações. Utilizando a formulação clássica, o estudo teria levado muito mais tempo (pelo menos 2 hora por fórmula x 300 ensaios = 600h de formulação). Este estudo de prospecção só foi possível graças à formulação rápida (item III.2.3), cujo tempo é estimada em 0,6 h por experimento x 300 ensaios = 180h de formulação.

III.2.3. Formulação Rápida

A execução do planejamento experimental como previsto só foi possível graças à utilização de uma concepção experimental bastante peculiar desenvolvida pelo laboratório de processos da empresa para aplicação a projetos deste porte, a formulação rápida. Essa técnica é baseada em três pilares de automação que viabiliza agilidade do processo: a dosagem pré-calibrada, a associação visual de cores e de códigos e a centrifugação assimétrica. A dosagem pré-calibrada é composta por um conjunto de ferramentas (pipetas de volume ajustável, pipetas de particulados e doses) que permitem uma pesagem de modo suficientemente reproduzível, sendo apenas necessário retirar a alíquota de matéria-prima diretamente, tomando um tempo bastante reduzido em relação à pesagem clássica. Um sistema simples de rotulagem combina matérias-primas, a serem designadas no presente trabalho em etapa preliminar de estudo técnico-comercial, colunas correspondentes na tabela do planejamento experimental especificando o número de doses e a dose ou mesmo pipeta pré-calibrada através de etiquetas da mesma cor.

Um período de aquecimento em estufa é previsto para algumas das formulações, quando se faz necessária a fusão entre as matérias-primas sólidas. Por fim, a homogeneização das preparações é feita utilizando uma centrífuga assimétrica. A centrífuga impõe o cisalhamento suficiente à mistura ao agitar as preparações a uma taxa de 2750 RPS durante 4 minutos. As preparações atingem novamente a temperatura ambiente sem qualquer procedimento particular. Desconsiderado o tempo inicial de aquecimento, cada formulação levou uma média de 6 minutos para ser preparada.

III.2.4. Análise Sensorial

A fim de evitar a geração de dados não utilizáveis, assumiu-se que apenas ensaios estáveis passariam à etapa de análise sensorial. Enquadram nessa categoria os ensaios que apresentavam aspecto homogêneo 120h após sua preparação, ou seja, toda preparação com mais de uma fase após este período de tempo foi considerada instável. Apesar da identificação de algumas faixas de valor das variáveis observadas, a análise sensorial teve cunho qualitativo, com objetivo de elucidar a ocorrência de certos efeitos quando em presença de determinadas matérias-primas e não de determinar pontos específicos no universo de estudo. O perfil sensorial realizado por cinco avaliadores experientes incluiu 21 descritivos, a saber: aspecto visual do produto no recipiente (cor, brilho, transparência, rugosidade e fluidez); tomada do produto (aderência ao dedo, formação de fio, viscosidade e espessura entre os dedos), aplicação do produto sobre a pele (transformação da textura, derretimento, esfoliação, frescor, formação de filme branco, velocidade de penetração, oleosidade, pele brilhante, pele colante e pele deslizante), interação com a água (molhabilidade e rinsagem). Os testes foram realizados sobre uma área previamente higienizada (antebraço) seguindo um mesmo protocolo de aplicação definido internamente a fim de garantir a reprodutibilidade dos resultados obtidos.

III.3. Resultados e Discussões

III.3.1. *Framework* do Mercado

A evolução do mercado de surfactantes nos últimos 50 anos, não se deu apenas quantitativamente, mas também na variedade de matérias-primas oferecidas e suas aplicações. A indústria se transformou com a pressão de um novo mercado consumidor que anseia por produtos naturais, de origens renováveis e de menor impacto ao meio ambiente. Os consumidores de produtos cosméticos assim como os de outros segmentos procuram além do bem estar, um consumo sustentável e ambientalmente durável, além do desempenho esperado de um produto convencional. Esta nova influência veio de forma mais acentuada nos últimos cinco anos, além da preocupação crescente com as matérias-primas e com os custos energéticos nas várias etapas do processo de fabricação, existe ainda uma crescente necessidade de ter produtos certificados, cujas “segurança” e sustentabilidade estão asseguradas por um órgão independente, governamental ou não.

Um nicho do mercado de cosméticos que se abre claramente ao consumo de produtos naturais, orgânicos e *bio* necessita do desenvolvimento de surfactantes específicos para essa aplicação, assim sendo, pesquisadores e industriais da cadeia fornecedora se orientam em direção a três caminhos distintos: (1) procurar extratos de plantas cujas frações contenham compostos com atividade surfactante em potencial; (2) sintetizar os chamados “surfactantes verdes” cujas matérias-primas são de origem vegetal ou biomassa; (3) e de uma forma mais exploratória, desenvolver sínteses biotecnológicas, isto é, os processos controlados de fermentação microbiana a partir de diversas matérias-primas, principalmente de origem natural.

Dentre as matérias-primas de origem vegetal, quatro famílias principais de compostos químicos atraíram a atenção para o estudo e foram assim distinguidas: polissacarídeos, lecitinas, esteróis e saponinas. Os polissacarídeos desempenham as suas funções na interface gelificante/emulsionante a depender de suas ramificações, grupos de cadeia lateral que muitas vezes permitem a interação com a fase hidrofílica polar. Nesta classe são comercializados gomas, pectinas e extratos constituídos principalmente da parede celular da planta, contendo altas concentrações de celulose e hemicelulose.

As saponinas fazem suas interações hidrofílicas através dos grupos adjacentes às cadeias heterocíclicas. As matérias-primas oferecidas pelo mercado de surfactantes não são numerosas, as origens são bastante variadas e os métodos de extração e purificação ainda não estão bem conhecidos. Já para as lecitinas, o mercado oferece principalmente extratos de soja e algumas formas modificadas por reação enzimática. Ainda, foram encontrados esteróis fracionados de extratos de plantas gramíneas, por vezes, envolvidos

em emulsões, mas cujas interações bastante específicas são dependentes da sua origem e dos outros componentes da formulação de que participam².

A nova indústria de surfactantes também conta com quatro famílias químicas expoentes, as quais já têm representantes disponíveis comercialmente: os alquilpoliglicosídeos, derivados de aminoácidos, soforolipídeos e ramnolipídeos. Reputados por suas propriedades bacteriostáticas, tanto os ramnolipídeos quanto os soforolipídeos seguem seu caminho natural em direção às aplicações surfactantes na indústria de cosméticos. A família dos APGs tem potencial aplicação em cosméticos naturais, pois é uma nova geração de surfactantes não-iônicos, “verdes”, pouco impactantes ao meio ambiente, não-tóxicos, não bioacumulativos. Finalmente, apresentam-se os derivados de aminoácidos com suas estruturas diversificadas, dependendo das moléculas de origem, e muitas vezes produto de reações enzimáticas ou fermentação microbiana controladas.

Entre as matérias-primas disponíveis no banco de dados de fornecedores cadastrados, os surfactantes selecionados foram: uma goma de acácia (*Acacia senegal*), uma goma de ghatti (*Anogeissus latifolia*), um extrato de hemicelulose de soja (*Glycine max*), uma pectina extraída de beterraba (*Beta vulgaris*), uma saponina derivada de um extrato de quinoa (*Chepodium quinoa*), uma lecitina orgânica de soja (*Glycine max*), um APG de xilose, um derivado geminado de aminoácidos, o dilauramidoglutamina lisina (DLAG) e um soforolipídeo. Além disso, no intuito de ter um referencial de comparação com os surfactantes já usualmente utilizados pela indústria de cosméticos, incluíram-se no estudo um éster de glicosídeo, um éster de poliglicerol (PG), um APG comercial e uma lecitina comercial.

Para a análise dos gráficos apresentados a partir do item III.3.2, a seguinte codificação é adotada para a identificação dos surfactantes em estudo:

Tabela 5 – Códigos de identificação de cada um dos biosurfactantes estudados utilizados nos gráficos.

Código	↔ Matéria-Prima	Código	↔ Matéria-Prima
acacia	goma de acácia	pectina	pectina de beterraba
APGx	APG de xilose	saponi	saponina de quinoa
lecitCom	lecitina comercial	Sophoro	sosforolipídeo
DLAG	derivado de aminoácido	hemicelu	hemicelulose de soja
ghatti	goma ghatti	EsterGlic	éster de glicosídeo
lecit	lecitina orgânica de soja	EsterPG	éster de PG
APGCom	APG comercial	Lipid²	esterol ²

² Um esteroi foi selecionado como uma das matérias-primas a ser analisada durante o estudo, contudo problemas ligados à sua temperatura de fusão muito alta impossibilitaram a sua incorporação adequada às preparações, assim sendo, esse surfactante, quando presente em um ensaio, se manteve no estado sólido, inerte, e sua contribuição como surfactante foi negligenciada.

III.3.2. A Contribuição dos Novos Surfactantes

De acordo com o critério eliminatório de seleção, dentre os 300 experimentos realizados, apenas 175 foram considerados para a próxima etapa porque consistiam em uma fase homogênea e por isso passaram por análise sensorial (item III.2.4). Através da análise de dados, este método permitiu associar uma textura desejada ou um comportamento específico a certas composições. Além disso, na direção oposta, foi possível focar numa textura interessante e identificar regras de formulação adequadas para atingi-la. Para se ter referência de padrões disponíveis atualmente no mercado de cosméticos, adicionou-se ao plano sensorial o que foi chamado de "retratos padrões de textura", ou seja, perfis dos produtos que são a referência no mercado para aquele tipo de textura, sejam pertencentes ao portfólio de marcas da empresa ou da concorrência.

III.3.2.1. Generalidades

Estudou-se a contribuição dos novos surfactantes para a estabilidade e aspectos sensoriais em geral. Como a combinação de dois surfactantes em uma mesma preparação era possível segundo parâmetros do planejamento experimental definido, quando fixado no eixo surfac1 o valor 0, evidencia-se as preparações onde o surfac2 não está combinado, aparecendo como único surfactante da preparação. Quando presente isoladamente, o DLAG mostra uma tendência notável à estabilidade da preparação ao mesmo tempo as lecitinas (orgânica e comercial) e a hemicelulose se provaram predominantemente instáveis nas mesmas condições (Figura 13). Para os outros surfactantes, a estabilidade é provavelmente dependente de outros fatores, uma vez que é distribuída aleatoriamente.

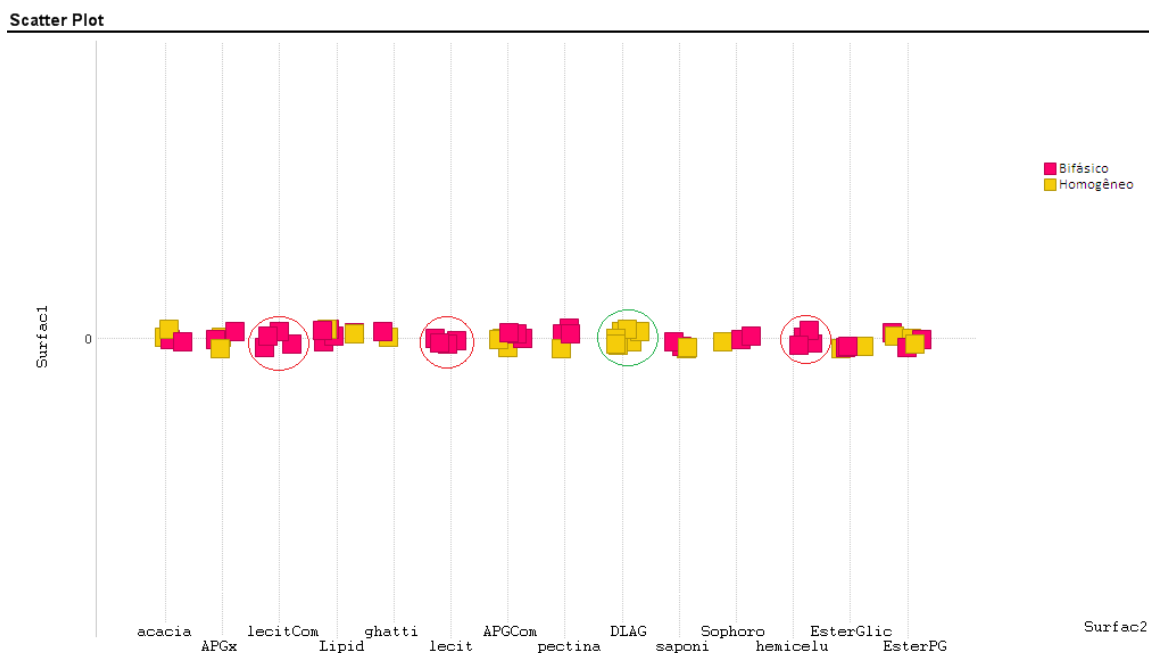


Figura 13 – Estabilidade dos surfactantes isoladamente. Em rosa os ensaios bifásicos e em amarelo as formulações homogêneas, os círculos vermelhos mostram zonas de instabilidade e o círculo verde a zona de estabilidade do DLAG.

Os dados sensoriais mostraram ainda que a percepção da oleosidade de uma formulação não está sempre relacionada com a natureza da fase graxa nela presente. De fato, várias preparações com fase aquosa predominante (concentração superior a 70%) foram classificadas como oleosas, sobretudo quando a fase aquosa era representada pelo glicerol ou quando um polissacarídeo era usado como matéria-prima co-surfactante. Neste último caso, o item "pele brilhante" esteve sempre associado. Além disso, verificou-se que o uso de APGs (APGx e APGCom) sozinhos como surfactante tendem a diminuir a percepção de penetração e de oleosidade das preparações assim como a sensação de suavidade da pele após a aplicação.

III.3.2.2. Os Novos Surfactantes

Analisando a estabilidade das preparações contendo saponina combinada a outros surfactantes quando confrontada com as combinações dos quatro surfactantes comerciais associados a esses mesmos outros tensoativos, vê-se que a saponina produz essencialmente preparações homogêneas, sugerindo um potencial estabilizante de emulsões quando utilizado como co-surfactante (Figura 14).

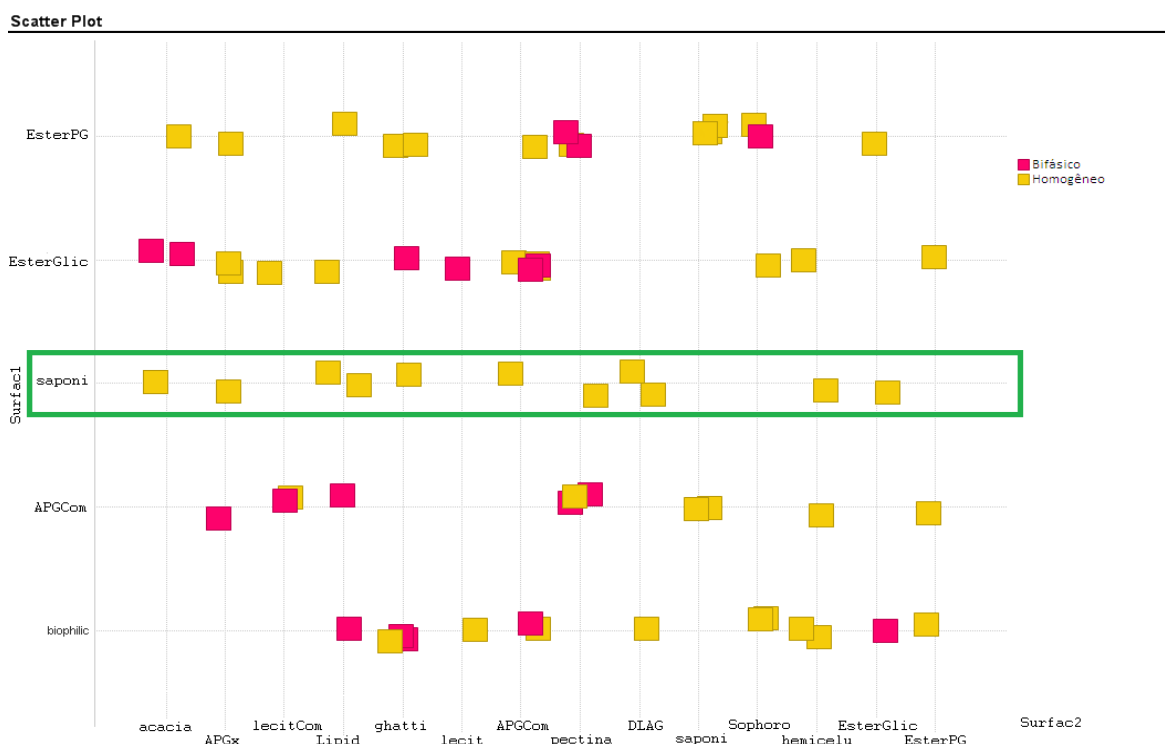


Figura 14 – Estabilidade das combinações de saponina e dos quatro surfactantes comerciais de referência com os outros surfactantes. Em rosa os ensaios bifásicos e em amarelo as formulações homogêneas.

Uma desvantagem observada para esta matéria-prima é escurecimento das preparações as quais ela é adicionada que se dá proporcionalmente a sua concentração. Resultado de particulados insolúveis marrons não eliminados durante o processo de

purificação do extrato de quinoa, esse aspecto é especialmente preocupante em formulações de *skincare* que usualmente devem ter tonalidades alvas. Ainda, nota-se uma viscosidade considerável das preparações e uma médio-baixa suavidade da pele após a aplicação, possivelmente devido ao seu poder detergente pronunciada que acaba por remover em excesso os lipídeos da superfície epidérmica.

O DLAG se mostrou uma matéria-prima precursora de preparações bastante estáveis quando utilizado sozinho ou em associação com outro surfactante, mas foram as propriedades sensoriais que atraíram a maior atenção. Os ensaios contendo este surfactante (1) nunca formam filme branco ao serem aplicados sobre a pele, possivelmente devido ao fato de, ao contrário da maioria das outras analisadas, ser uma matéria-prima com alto grau de pureza; (2) são frequentemente associados a um fenômeno de transformação de textura descrito no item III.3.3.3.

Em particular, uma propriedade muito interessante mostrada pelas preparações com DLAG é a de serem fórmulas facilmente rinsáveis mesmo quando estas contêm altas concentrações de óleo. Na Figura 15, pode-se ver que todas as associações de DLAG feitas com outros surfactantes apresentam bastante facilidade em serem rinsadas. Isto pode ser explicado pela sua capacidade de formar espuma facilmente, carreando a fase graxa com mais facilidade sob um fluxo contínuo de água. A análise sensorial nota certa tendência a tornar a pele suave e deslizante, e até mesmo a reduzir a percepção de oleosidade de uma preparação rica em óleo, daí o seu potencial e interesse de inovação.

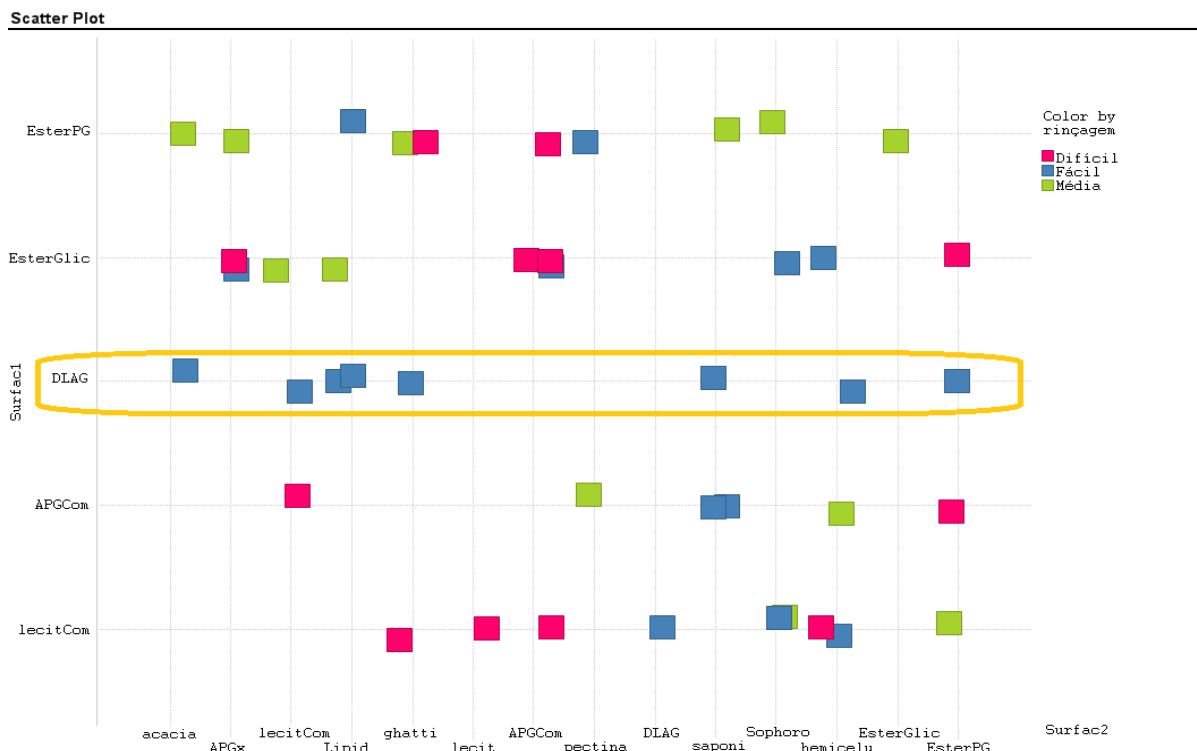


Figura 15 – Nível de rinsagem das preparações contendo DLAG e dos quatro surfactantes comerciais de referência combinados a outros surfactantes. Em rosa os ensaios de difícil rinsagem, em verde de rinsagem média e em azul os de rinsagem fácil.

Os ensaios contendo soforolípídeo não mostraram nenhuma tendência particular de estabilidade, seja com o surfactante sozinho ou esteja ele combinado. Contudo, dentre as preparações homogêneas, a mistura soforolípídeo/lecitina (orgânica ou comercial) é relativamente estável e gera fórmulas particularmente frescas (Figura 16), ocorrência que não é usual em formulações não alcoólicas.

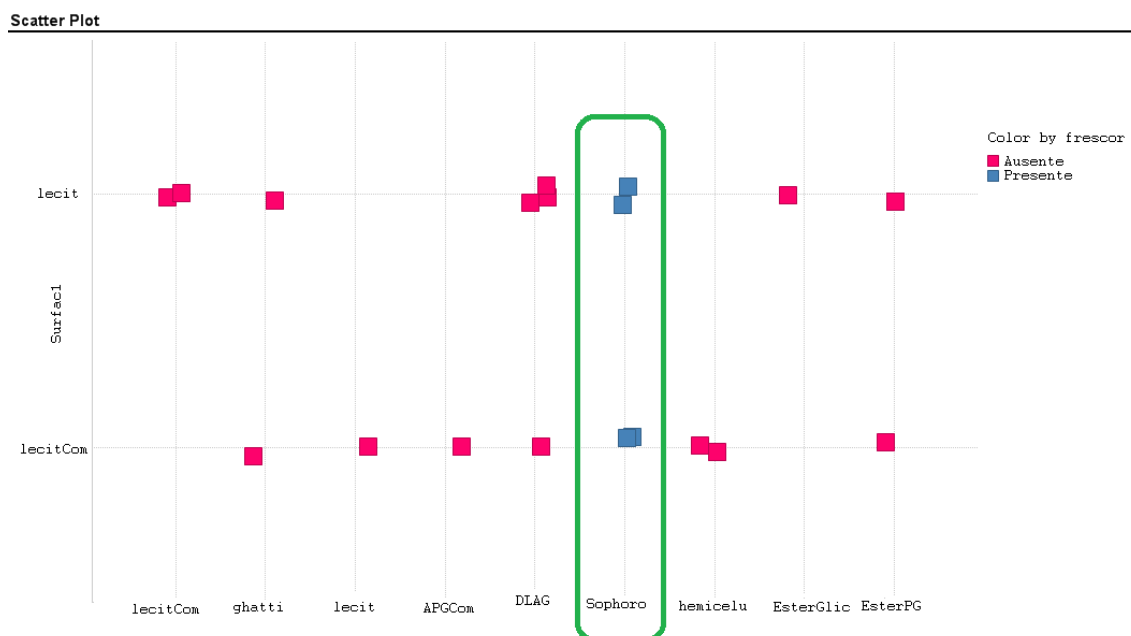


Figura 16 – Frescor³ das preparações contendo lecitinas associadas a outros surfactantes. Em rosa as fórmulas sem frescor particular, em azul as preparações frescas; a zona verde mostra a interação entre lecitinas e soforolípídeo.

A contribuição mais notável da utilização de APGx em substituição do já comercial APGCom é a acentuada diminuição da formação de filme branco durante a aplicação das preparações. É razoável supor que esta tendência do APGCom a formar um filme branco está diretamente relacionada à presença de álcool cetosteárilico no *blend* da matéria-prima (Figura 17), substância para qual este fenômeno de saponificação é notório. O APGx tem uma clara tendência de gerar preparações cuja percepção de oleosidade, brilho e viscosidade são aumentadas.

A análise de certos gráficos também permitiu identificar sinergias em potencial, ou seja, associações de surfactantes que produzem preparações com características específicas e desejadas. Combinações de lecitinas (orgânica e comercial) com goma ghatti ou de soforolípídeo com éster de PG geram formulações de baixa percepção do aspecto “oleosidade”. Além disso, nota-se uma tendência considerável em termos de estabilidade das emulsões quando as lecitinas se encontram associadas ao soforolípídeo ou ao DLAG.

³ Onde o descritivo frescor é entendido como a sensação de diminuição da temperatura perceptível da pele após aplicação de uma preparação sob a mesma.

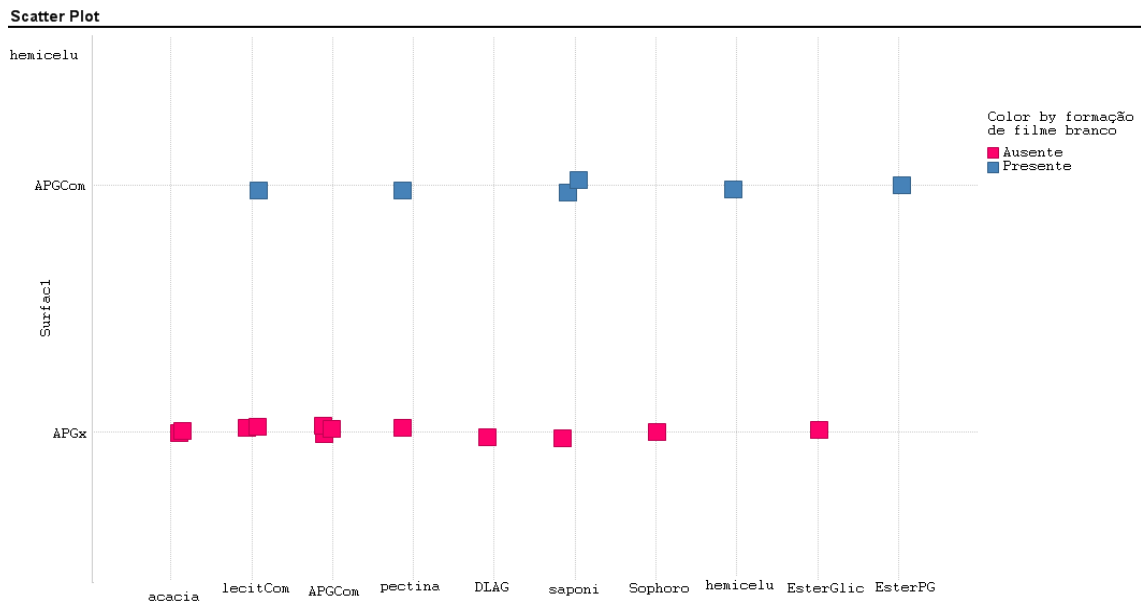


Figura 17 – Formação de filme branco (saponificação) sobre a pele durante a aplicação. Comparação das preparações contendo combinações de APGs com outros surfactantes. Em rosa formulações que formam filme branco, em azul as formulações onde o mesmo é ausente.

Utilizando os "retratos padrões de textura", foi possível fixar uma textura definida como objetivo e procurar dentro do domínio experimental o perfil das preparações que mais se aproximam da textura de interesse, identificando assim se um determinado TA é mais adequado para uma determinada aplicação. As tendências não são óbvias para todos os tipos de produtos, mas os BHLs são indícios das tendências encontradas abaixo:

- Batons e protetores labiais: lecitinas (orgânica e comercial), éster de PG, éster de glicosídeo
- Skincare: sofrorolípídeo, DLAG
- Rímel: hemicelulose
- Máscara: éster de PG, éster de glicosídeo

Tabela 6 – Resumo dos resultados obtidos sobre as propriedades dos surfactantes estudados. (+): mais estável e (-): instável.

Surfactante	DLAG	Soforolípídeo	Lecitinas orgânica e comercial	APGx e APGCom	Saponina	Goma ghatti	Goma de acácia	Hemicelulose e Pectina
Estabilidade	(+) Isolado	Sem tendência particular	(-) Isolado (+) Associado a DLAG ou soforolípídeo	Sem tendência particular	(+) Associado a outro surfactante	(+) Associado a outro surfactante	(+) Associado a outro surfactante	(-) Isolado
Sensorial	Baixa percepção da oleosidade Rinsagem fácil Pele suave e deslizante Ausência de filme branco	Formulações frescas, pele deslizante se associado a lecitinas	Baixa percepção da oleosidade quando associado a goma ghatti, soforolípídeo ou éster de PG Aspecto colante da lecitina orgânica > lecitina comercial	Diminuição da penetração e da suavidade da pele quando isolados APGx produz fórmulas mais oleosas, brilhantes e viscosas APGCom produz filme branco (saponificação)	Baixa suavidade da pele após aplicação		Formulações de fácil rinsagem e mais viscosas	
OBS	*Inversão de fase				* Escurecimento das preparações	*Escurecimento das preparações * Maior risco de contaminação microbiana	* Esfoliação em meio anidro	

III.3.3. Regras Gerais de Formulação

O planejamento experimental permitiu ainda elaborar alguns princípios gerais de formulação, sendo o mais interessante destes sobre a percepção da penetração das preparações cosméticas contendo predominantemente fase graxa (mais de 50% w/w em óleo e/ou cera). O senso comum diria que uma preparação mais rica em lipídeos deixa sua fase graxa mais tempo sobre a superfície da pele, aumentando o tempo necessário a uma aplicação “correta” e, portanto, causando uma percepção sensorial de dificuldade de penetração. No entanto, o estudo mostra que isso não vem a ser uma regra muito estrita de formulação.

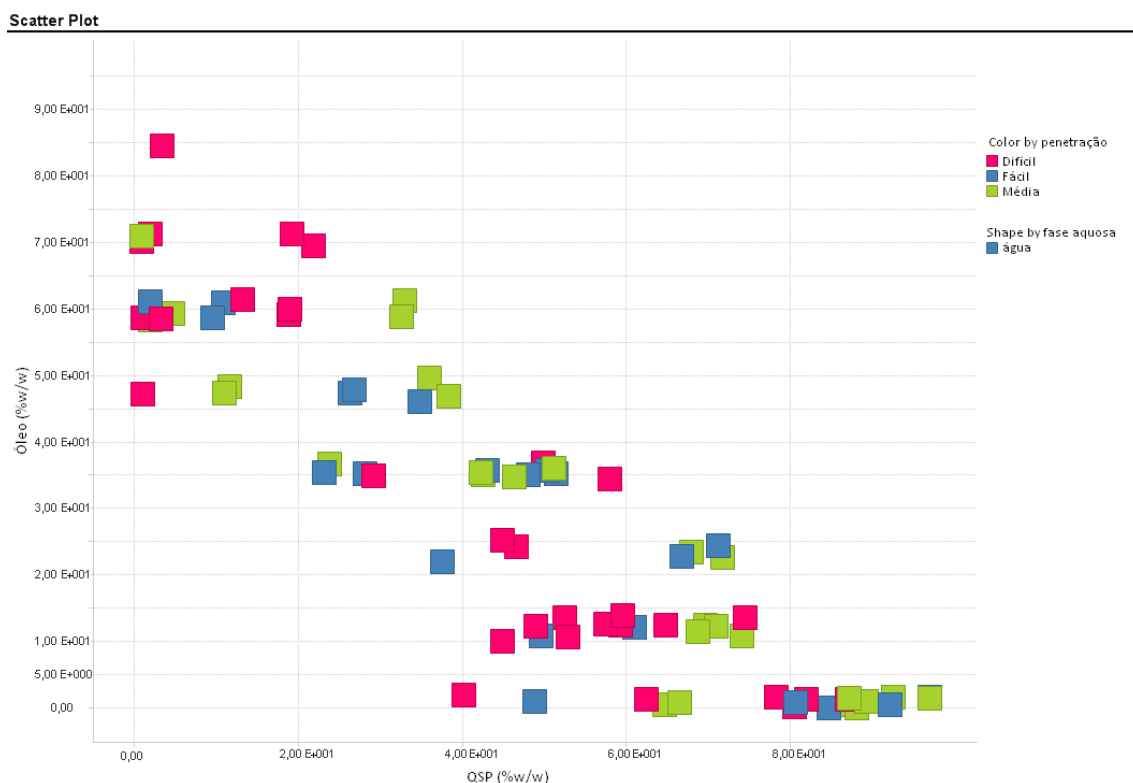


Figura 18 – Penetração das preparações contendo água como fase polar. Concentração mássica de óleo versus concentração de água; em rosa penetração difícil, em verde penetração média e em azul os ensaios de fácil penetração.

Na Figura 18, são mostrados todos os experimentos onde a fase aquosa era água em um gráfico de concentração de óleo versus concentrações de QSP, é razoável dizer que os diferentes níveis de penetração, fácil, média e difícil estão igualmente distribuídos por toda a faixa de teor de óleo, logo, conclui-se que a penetração de uma preparação desse tipo não está diretamente relacionada à concentração da fase graxa.

Em contraste, quando um filtro para experimentos contendo glicerol como a fase polar é aplicado, uma tendência real se mostra com relação à penetração da fórmula. Um nível razoável de penetração se apresenta a concentrações de relativamente altas de óleo (40%-60% w/w), enquanto que grande parte das formulações com uma baixa percepção de penetração são predominantemente de natureza polar (Figura 19).

Além disso, o estudo pôs em evidência que a penetração não é apenas uma função da concentração de óleo na preparação, mas poder estar relacionada à natureza química deste óleo. De fato, o dicaprilil carbonato tem uma penetração superior a óleo de jojoba e esqualano, isto é possivelmente função da polaridade dos óleos, dos seus pesos moleculares, e das interações entre as cadeias graxas e a epiderme (Apêndice 2).

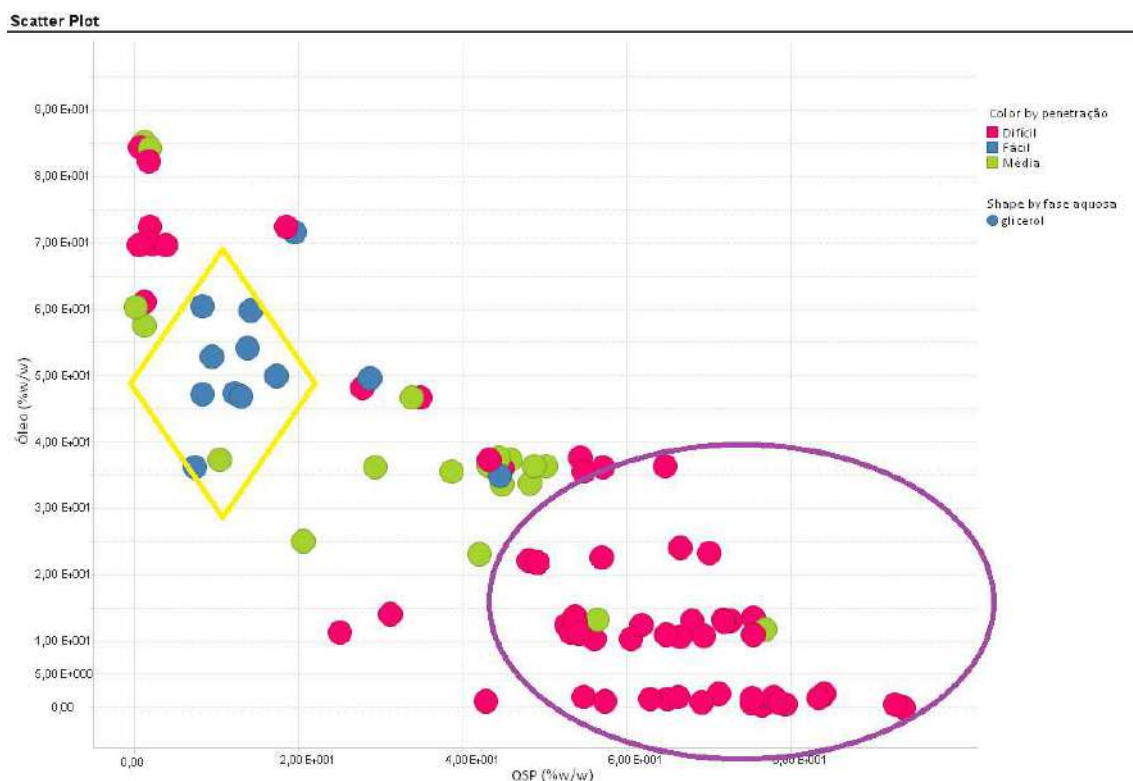


Figura 19 – Penetração das preparações contendo glicerol como fase polar. Concentração mássica de óleo versus concentração de água; em rosa penetração difícil, em verde penetração média e em azul os ensaios de fácil penetração.

Enfim, as análises confirmam que os aspectos oleosidade e brilho de pele após aplicação apresentados por uma formulação não estão diretamente relacionados com a concentração da fase graxa, mas podem ser resultado das interações com a fase aquosa de polissacarídeos presentes na formulação, ou apenas da natureza da fase aquosa, sendo esta o glicerol.

III.3.3.1. Efeito *Fondant*

É notório na indústria cosmética que a sensação de derretimento durante a aplicação, conhecido como efeito *fondant* de uma formulação, está diretamente relacionada à presença dos óleos e ceras nela contidos. Esse efeito é resultado das interações entre as cadeias lipídicas do óleo, líquido à temperatura ambiente, com as cadeias mais longas de cera que é sólida nas mesmas condições de temperatura, gerando uma mistura de ponto de fusão intermediário, mais próximo da temperatura corporal (+/- 35 °C). Assim, no momento da aplicação, o *blend* óleo/cera derrete, dando a

sensação de alteração na textura sobre a pele, conhecida como efeito *fondant*. A partir de um gráfico de concentração de cera contra concentração de óleo, como mostrado na Figura 20, identifica-se uma zona definida onde o efeito acontece.

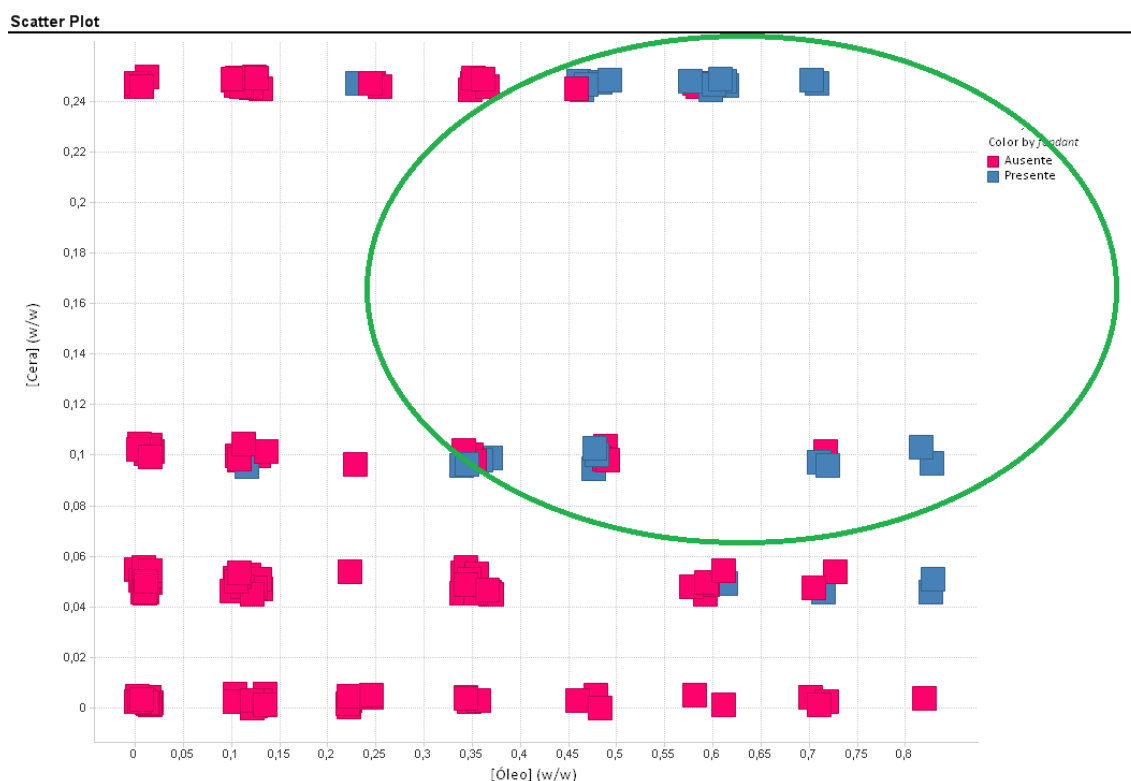


Figura 20 – Zona de ocorrência do efeito *fondant*. Gráfico da concentração de cera versus concentração de óleo; em azul as preparações onde se identifica o efeito *fondant*.

Não somente a zona onde o efeito ocorre pode ser observada como também é possível delinear subzonas definidas nas quais se percebem tendências de associação entre cada um dos diferentes tipos de óleo e uma faixa característica de concentração de cera que permite a formação do fenômeno observado (Figura 21):

- Dicaprilil carbonato [40%-50%] e cera [20% -25%]: zona laranja
- Óleo de Jojoba [40%-80%] e cera [4%-12%]: zona roxa
- Esqualano [60%-75%] e cera [20%-25%]: zona amarela

Isto mostra que as diferentes naturezas dos óleos acarretam diferentes níveis e tipos de interação entre óleo e cera para gerar o mesmo efeito. Além disso, verificou-se que o efeito do *fondant* está frequentemente associado à presença do éster de glicosídeo e/ou do éster de PG, o que confirma a sua aplicação específica em batons, protetores labiais e outras formulações mais graxas e secas, produtos onde a sensação de derretimento durante a aplicação é parâmetro essencial. As lecitinas também aparecem como surfactante preferencial na ocorrência deste fenômeno quando estão em concentrações superiores a 5%, o que é explicado pela sua lipofilia acentuada.

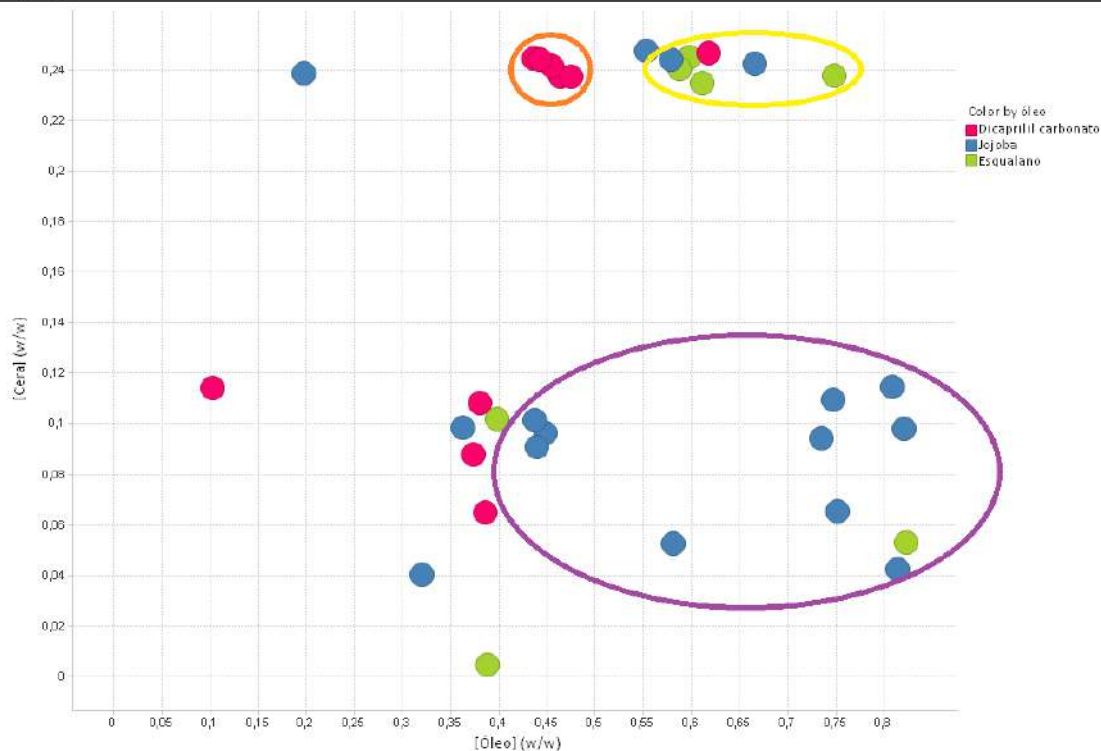


Figura 21 – Subzonas de ocorrência do efeito *fondant* identificadas pela predominância de um tipo de óleo. Gráfico da concentração de cera *versus* concentração de óleo; em azul as preparações geradas pelo óleo de jojoba, em rosa as geradas pelo dicapríllil carbonato e em verde as geradas pelo esqualano.

III.3.3.2. Efeito Superelástico

Durante a análise sensorial, identificou-se uma textura bastante particular que se repetiu em vários ensaios. Esta é caracterizada pelos seguintes aspectos: muita elasticidade, muita viscosidade, textura pegajosa e formação de filme branco durante a aplicação. Dado o aspecto visual das preparações, o fenômeno foi chamado de efeito superelástico. Alguns indícios mostraram que esta textura incomum de goma de mascar pode estar relacionada com as interações entre goma xantana e glicerol a condições específicas.

Primeiramente, filtramos, dentre todos os ensaios homogêneos, as preparações colantes, viscosas, espessas e elásticas, em um gráfico natureza do surfactante *versus* concentração da fase polar. Assim, pode-se constatar que os experimentos com aspecto superelástico estão igualmente distribuídos pelo gráfico e que, portanto, a natureza do surfactante na tem qualquer correlação com o efeito em estudo (Apêndice 3). Em seguida, para definir a área de ocorrência do fenômeno, sobre um gráfico concentração de goma xantana *versus* concentração de QSP, selecionou-se apenas os experimentos onde o QSP era glicerol. Por fim, os pontos cujas preparações formavam filme branco durante a aplicação foram retidos.

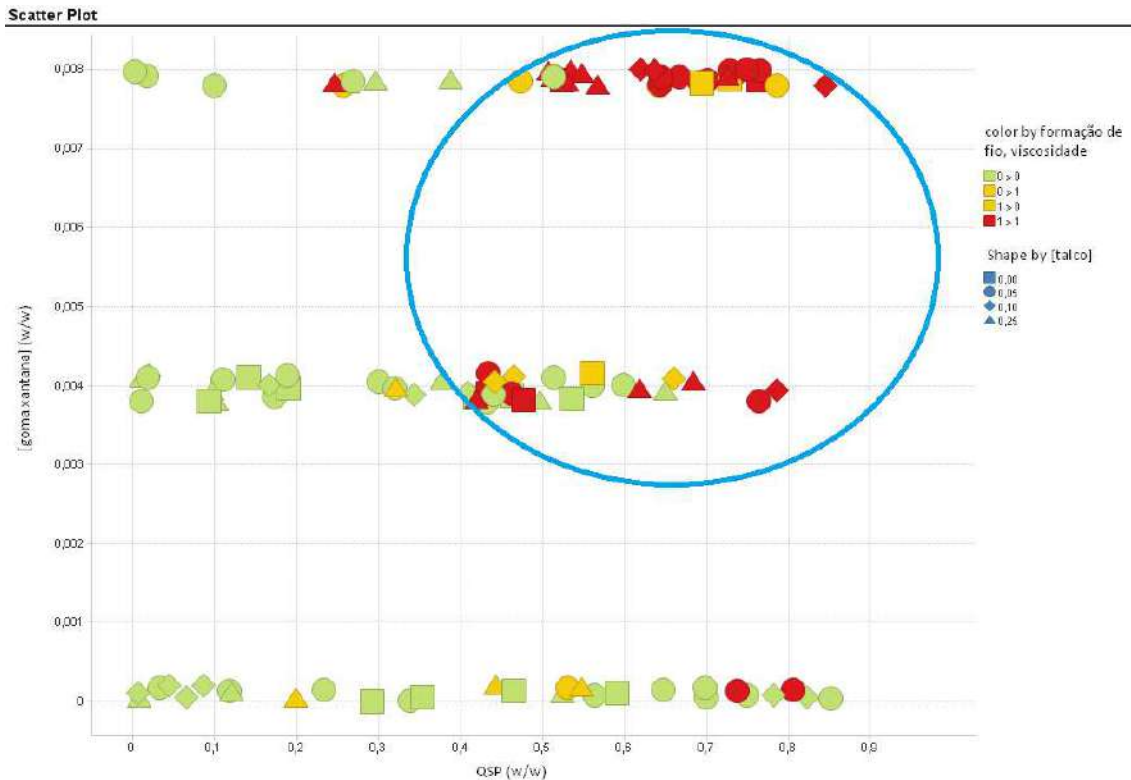


Figura 22 – Zona de ocorrência do efeito superelástico. Gráfico da concentração de goma xantana contra concentração de QSP (glicerol, essencialmente); em verdes ensaios nem elásticos nem viscosos, em amarelo ensaios elásticos ou viscosos e em ensaios elásticos e viscosos; (□), (○), (◇), (Δ) representam, respectivamente, concentrações crescentes de talco.

A Figura 22 mostra especificamente a zona onde esse fenômeno ocorre, determinada pela faixa de concentrações de glicerol de 40% a 85% da massa total, e goma xantana na faixa de 0,4% a 0,8% w/w. Além disso, a presença do talco é freqüentemente observada em concentrações que variam entre 5% e 25% da massa total nos ensaios que apresentam o efeito. Frente a essas constatações, é razoável supor que durante os experimentos ocorre um fenômeno de gelificação da fase glicerol como resultado da adição de goma xantana, gerando assim, a referida textura de goma de mascar. A presença de um particulado insolúvel em elevadas concentrações ainda acentua este efeito.

III.3.3.3. Efeito de Inversão de Fases

Assim como descrito para os outros efeitos, algumas das preparações atraíram a atenção por se comportarem de uma maneira particular durante sua aplicação sobre a pele. Em um primeiro momento, certas preparações se comportavam tipicamente como emulsões clássicas que penetram através da pele conforme a fricção continua, contudo ao se continuar o cisalhamento, estas subitamente cessavam a frenagem natural causada pelo atrito sobre a pele a passavam a deslizar fortemente. Este fenômeno de “quebra” de emulsão, também conhecido como inversão de fases nada mais é que a conversão de

uma emulsão direta O/W (óleo em água) em uma emulsão reversa W/O (água em óleo) que ocorre após certo tempo sob o efeito do atrito contra a pele.

Esse fenômeno, sob uma ótica dinâmica, já é de difícil compreensão, mais difícil ainda é se deparar com matérias-primas que confirmam esta propriedade a suas preparações, daí o interesse de uma análise focada na identificação das condições que geram esse efeito. Todas as associações de surfactantes foram estudadas e o DLAG foi identificado como responsável por esta transformação (Figura 23). Além disso, pode-se dizer que ele é capaz de gerar o mesmo efeito sozinho, mas também combinado à lecitina comercial, às gomas de acácia e ghatti, e ainda APG de xilose em uma proporção de 1:1.

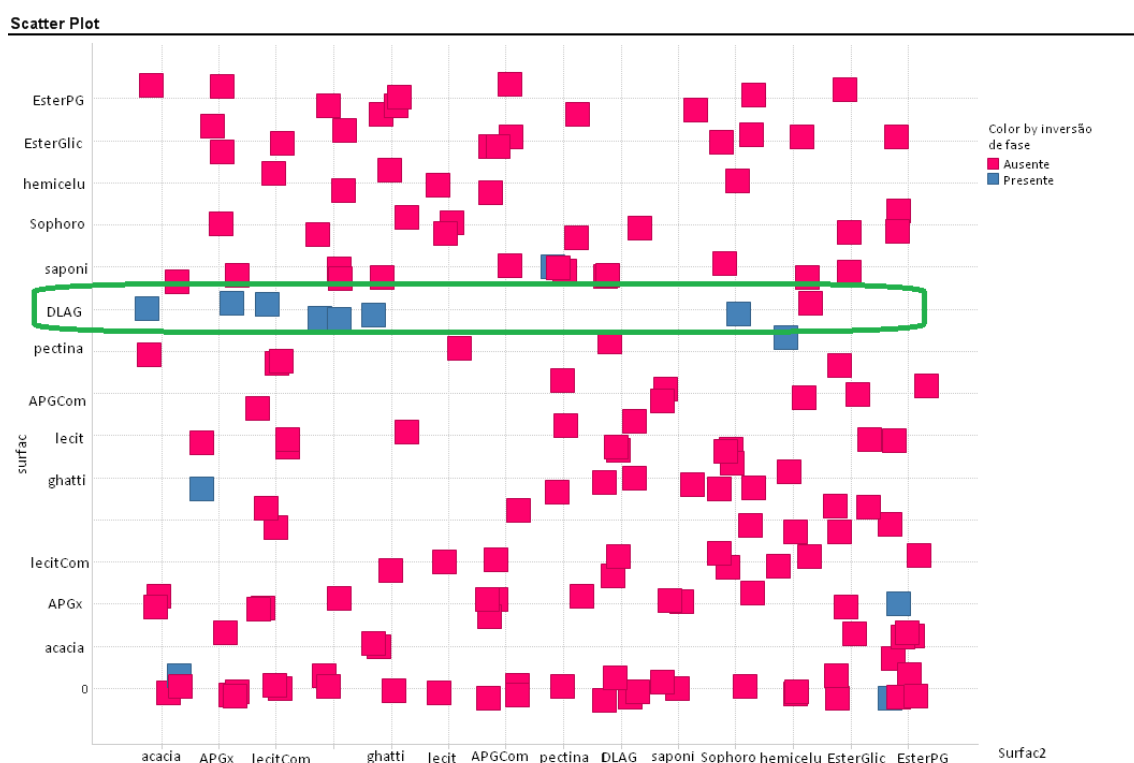


Figura 23 – Zona de ocorrência do efeito de inversão de fases. Gráfico de associações entre os surfactantes; em azul as preparações que sofrem inversão de fases durante a aplicação.

Uma vez que a maioria dos ensaios contendo DLAG que sofrem inversão de fases deixa um aspecto sensorial demasiadamente oleoso após sua “quebra”, investigou-se se o efeito era influenciado pela fase apolar utilizada. Aparentemente, esta inversão de fase é obtida, na maioria das vezes, em zonas do domínio experimental que contêm mais de 35% de fase oleosa, especialmente com um óleo mais polar como o dicaprilil carbonato que interage fortemente com as cadeias do DLAG.

III.4. CONCLUSÕES

A formulação rápida vem se acoplar ao planejamento experimental reduzindo o tempo necessário para cada teste e tornando possível um número ainda maior de pontos ao mesmo tempo para um projeto. No momento, os resultados deste estudo constituem uma grande base de dados para o desenvolvimento de produtos inovadores naturais, orgânicos, *bio*. Futuramente, esses dados poderão ser re-analisados e modelados, com destaque para as ligações entre vários fenômenos simultâneos e suas variáveis explicativas, dependendo das diferentes matérias-primas.

Para os novos surfactantes naturais, algumas tendências foram identificadas, tais como a estabilidade e o aspecto sensorial excepcional do DLAG, ou uma associação de lecitina/soforolípídeo bastante adequada a produtos ricos em óleo e/ou cera. Contudo, o estudo vem suscitar questões mais amplas a nível industrial, o interesse do setor de P&D de uma multinacional deve considerar relevantes fatores como valor agregado, preço de compra e capacidade de provisionamento antes de dedicar milhares de dólares em pesquisa sobre uma nova matéria-prima surfactante.

O tratamento dos resultados também identificou áreas de efeitos de formulação *fondant*, de inversão de fases e de superelasticidade, assim como as regras de formulação que evitam ou reforçam a percepção do aspecto oleosidade de uma preparação. Apesar de tudo isso, a exploração dos resultados está longe de ser finalizada e deve ser ainda mais aprofundada para melhor identificar o potencial dos novos surfactantes.

Embora o interesse de inovação deste método em avaliar novas matérias-primas ditas “naturais” ou “verdes” tenha sido confirmado, muitos ajustes ainda podem ser feitos, permitindo a adequação do conjunto do método a outras análises. O estudo de caso é ilustrativo de uma abordagem estratégica que pode ser adotada por uma empresa do ramo de cosméticos a fim de responder às novas demandas de mercado sem se “perderem” em meio ao volume colossal de novas matérias-primas que são oferecidas pelo mercado fornecedor.

IV. Perspectivas

Os biossurfactantes possuem, sem dúvida, potencial de aplicação maior que os tensoativos petroquímicos quando os domínios de interesse requerem um impacto ambiental menos pronunciado. Isso se dá, primeiramente, devido à inocuidade para com os ecossistemas, à ecotoxicidade praticamente nula e à fácil biotransformação. Ainda se destacam pelo fato de serem sintetizados à partir de fontes renováveis ou dejetos de outras atividades industriais.

São exatamente as inúmeras e diferenciadas propriedades físico-químicas e biológicas dos biossurfactantes que podem ser úteis em diferentes ramos industriais; recentemente a atividade anti-adesiva apresentada por eles atraiu a atenção como uma nova ferramenta de inibir e destruir biofilmes formados por microrganismos, cuja utilização em superfícies de contato de alimentos e de material hospitalar, por exemplo, pode ser de muita valia. A combinação dessa atividade e outras como a antimicrobiana com a condição principal de um tensoativo, o poder emulsionante e/ou estabilizante é o que sugere a aplicação potencial dos biossurfactantes como ingredientes multipropósito ou aditivos.

Esta classe de compostos que já compreende uma gama bastante extensa de famílias químicas, mas sua expansão está longe de se estagnar, muitos compostos ainda estão sendo descobertos e suas propriedades ainda são desconhecidas. Não só a indústria de cosméticos, mas os outros ramos industriais se vêem obrigados a definir uma estratégia que permita a seleção dos melhores candidatos a efetivamente fazer parte de um portfólio de processos industriais de interesse. O *screening* dessas novas moléculas biossurfactantes será dentro em pouco uma preocupação de qualquer multinacional da indústria de química. O desenvolvimento de métodos capazes de identificar eficazmente os potenciais “atores” principais do mundo dos biossurfactantes em um futuro próximo servirão de bases estratégicas das divisões de P&D dentro do mundo industrial.

As perspectivas para os biossurfactantes em um plano mais geral ainda dependem do desenvolvimento em paralelo de dois eixos primordiais para seu uso amplo nos ramos industriais: (a) Otimização dos processos produtivos, tornando-os cada vez menos custoso a ponto de competir de igual para igual com surfactantes petroquímicos, valorizando fontes de matéria-prima menos nobres; (2) Estudos mais aprofundados sobre as propriedades e efeitos biológicos sobre seres vivos, que assegurem sua utilização pelas indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética.

Apêndices

Apêndice 1– Fragmento ilustrativo da série de pontos experimentais onde as concentrações de cada matéria-prima se encontram reduzidas à base das doses associadas.

N° exp	Óleo/Água	Óleo [Óleo]	[Cera]	Fase Aq [Fase Aq]	1° Surf [1°Surf]	2° Surf [2°Surf]	Conserv	[gelificante]	[Talco]	Total				
1	0	H0	0	0	Água	59	0	0,6	0	0,6	0,12	0	0	60,00
2	0,8	H3	6	0	Água	52	9	0,6	1	0,6	0,12	0,24	0	60,00
3	0,4	H0	3	0	Água	52	3	0,6	13	0,6	0,12	0,48	3	60,00
4	0,6	H2	4	0	Glicerol	47	1	2,4	12	2,4	0,12	0,48	3	60,00
5	0,4	H0	3	0	Água	45	2	3,0	10	3,0	0,12	0,24	6	60,00
6	0,8	H1	3	15	Água	23	0	1,8	5	1,8	0,12	0,24	15	60,00
7	0,8	H3	4	15	Água	36	12	0,6	6	0,6	0,12	0,24	3	60,00
8	0,8	H0	6	0	Água	50	1	1,8	3	1,8	0,12	0,48	0	60,00
9	0,4	H2	2	6	Glicerol	31	8	3,0	2	3,0	0,12	0,48	15	60,00
10	0,2	H1	1	15	Água	37	1	1,8	0	1,8	0,12	0,48	3	60,00

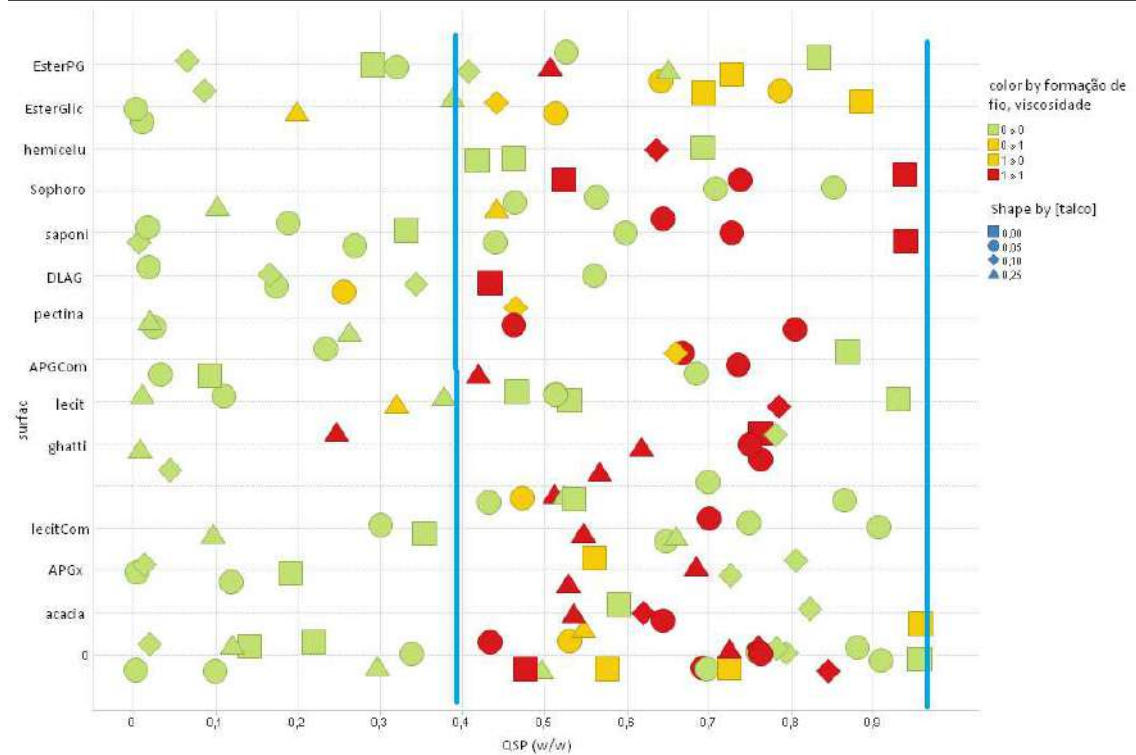
Apêndice 2 - Nível de penetração das preparações em um gráfico de natureza do óleo versus concentração de óleo. Penetração mais fácil de preparações contendo dicaprilil carbonato.

Scatter Plot



Apêndice 3 - Zona de ocorrência do efeito superelástico. Os ensaios apresentando o efeito, mostrados em vermelho, estão igualmente repartidos por todos os tipos de surfactante.

Scatter Plot



Referências Bibliográficas

- Acmite Market Intelligence. (2010). *World Surfactant Market* (Vol. 1). Ratingen.
- Arima, K., Kakimura, A., & Tamura, G. (1968). Surfactin, a crystalline peptide surfactant produced by *Bacillus subtilis*: isolation, characterization and its inhibition of fibrin formation. *Biochemical and Biophysical Research Communications* (31), pp. 488-494.
- Banat, I. M., Makkar, R. S., & Cameotra, S. S. (2000). Microbial Production of Surfactants and their Commercial Potential. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 53, 494-508.
- Beare-Rogers, J. L., Bonekamp-Nasner, A., & Dieffenbacher, A. (1992). Determination of the phospholipid profile of lecithins by high performance liquid chromatography. *Pure & Applied Chemistry*, 64 (3), pp. 447-454.
- Bergström, S., Theorell, H., & Davide, H. (1946). On a metabolic product of *Pseudomonas pyocyanea*, pyolipic acid, active against *Mycobacterium tuberculosis*. *Ark Kemi Mineral Geolgi* (23A), pp. 1-12.
- Bertrand, F., Deville, S., & Dupuis, L. (2013). *Patent No. EP2550016 A2*
- Bevia, F. R., Prats, D., & Rico, C. (1988). Elimination of L.A.S. (linear alkylbenzene sulphonate) during sewage treatment, drying and compositage of sludge and oil amending process. In: D. Quaghebeur, I. Temmerman, & G. Angeletti, *Organiccontaminants in wastewater, sludge and sediment*. London: Elsevier Applied Science.
- Bonte, F., Dumas, M., & Perrier, P. (2003). *Patente N° US6641848*. Unites States.
- Brandão, M. S. (1999). Substâncias Tensoativas. *Biotecnologia: Ciência & Desenvolvimento* (8), pp. 30-34.
- Brasil. (1977). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Decreto N° 79.094, de 5 de Janeiro de 1977*. Brasília, DF: Diário Oficial da República Federativa do Brasil.
- Cabrera-Valladares, N., Richardson, A.-P., Olvera, C., Treviño, L., Deziel, E., Lepine, F., et al. (2006). Monorhamnolipids and 3-(3-hydroxylalkanoloxy) alkanolic Acids (HAAs) production using *Escherichia coli* as a heterologous host. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 73, pp. 187-194.
- Canizares, E., & Zini, C. (2009). A Convenção de Estocolmo e a indústria de celulose e papel - Parte I. *O Papel*, 70 (4), 51-63.
- Christian Dior, P. (2003). *Patente N° US6641848*.
- Christofi, N., & Ivshina, I. (2002). Microbial surfactants and their use in fuel studies of soil remediation. *Journal of Applied Microbiology*, 93, 915-929.
- Cirigliano, M., & Carman, G. (1984). Isolation of a bioemulsifier from *Candida lipolytica*. *Applied Environmental Microbiology* (48), pp. 747-750.

- Claus, R., Haferburg, D., Hommel, R., & Kleber, H. (1986). Extracellular microbial lipids as biosurfactants. In: A. Fiechter (Ed.), *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology: Bioproducts* (1ª ed., Vol. 33, pp. 53-93). Berlin: Springer Verlag.
- Cortés-Sánchez, A., Hernández-Sánchez, H., & Jaramillo-Flores, M. (2013). Biological activity of glycolipids produced by microorganisms: New trends and possible therapeutic alternatives. *Microbiological Research*, 168, pp. 22-32.
- Desai, J., & Banat, I. (1997). Microbial production of surfactants and their commercial potential. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 61 (1), pp. 47-59.
- Fiechter, A. (1992). Biosurfactants: moving towards industrial applications. *Trends in Biotechnology*, 10, pp. 208-217.
- Fiume, Z. (2001). Final report on the safety assessment of lecithin and hydrogenated lecithin. *International Journal of Toxicology*, Suppl. 1 (20), pp. 21-45.
- Gardingo, M. F. (2010). Tratamento de águas e efluentes contendo surfactantes através do sistema peróxido de hidrogênio / hipoclorito. *Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais) - Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro*, 80f. Rio de Janeiro.
- Ghent University. (2009). Acesso em 30 de Março de 2012, disponível em BIOSURF: <http://www.biosurf.ugent.be/Biosurfactantia.htm>
- Gobley, M. (1846). Recherches chimiques sur le jaune d'oeuf. *Journal de Pharmacie et de Chimie*, 9 (3), pp. 81-91.
- Griffin, W. C. (1949). Classification of Surface-Active Agents by "HLB". *Journal of the Society of Cosmetic Chemists* (1), pp. 311-326.
- Haralampidis, K., Trojanowska, M., & Osbourn, A. (2002). Biosynthesis of triterpenoid saponins in plants. *Advances in Biochemical Engineering & Biotechnology* (75), pp. 31-49.
- Hemminger, P. (2005). Bioremediation of contaminated soils. *Biocycle* (46), pp. 35-38.
- Henkel, M., Müller, M. M., Kügler, J. H., Lovaglio, R. B., Contiero, J., Syltatk, C., et al. (2012). Rhamnolipids as biosurfactants from renewable resources: Concepts for next-generation rhamnolipid production. *Process Biochemistry* (47), pp. 1207-1219.
- Hirata, Y., Ryu, M., Igarashi, K., Nagatsuka, A., Furuta, T., & Sugiura, M. (2009). Novel characteristics of sopholipids, yeast glycolipid biosurfactants, as biodegradable low-foaming surfactants. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 108 (2), pp. 142-146.
- Holt, M. S., Matthijs, E., & Waters, J. (1989). The concentrations and fate of linear alkylbenzene sulphonate in sludge amended soils. *Water Research* (6), pp. 749-759.
- IUPAC. (2006). *Gold Book*. Acesso em 25 de Setembro de 2012, disponível em <http://goldbook.iupac.org/P04558.html>

- Jarvis, F. G., & Jhonson, M. J. (1949). A glyco-lipide produced by *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of American Chemical Society* (71), pp. 4124-4126.
- Jimenez, M. A., Scarino, M. L., Vignolini, F., & Mengheri, E. (1990). Evidence that polyunsaturated lecithin induces a reduction in plasma cholesterol level and favorable changes in lipoprotein composition in hypercholesterolemic rats. *The Journal of Nutrition* , 120 (7), pp. 659-667.
- Jönsson, B., Lindman, B., Holmberg, K., & Kronberg, B. (1998). *Surfactants and polymers in aqueous solution*. Chichester: John Wiley & Sons.
- Jooste, S., & Thirion, C. (1999). An ecological risk assessment for a South African acid mine drainage. *Water Science and Technology* , 39, pp. 297-303.
- Kikuchi, M., Tokai, A., & Tamao, Y. (1986). Determination of trace levels of linear alkylbenzenesulphonates in the marine environment by high performance liquid chromatography. *Water Research* , 20 (5), pp. 643-650.
- Kitamoto, D., Haneishi, K., & Nakahara, T. T. (1990). Production of monnosylerythritol lipids by *Candida antarctica* from vegetable-oils. *Agricultural and Biological Chemistry* (54), pp. 37-40.
- Kitamoto, D., Isoda, H., & Nakahara, T. (2002). Functions and potential applications of glycolipid biosurfactants - From energy-saving materials to gene delivery carriers. *Journal of Bioscience and Bioengineering* (94), pp. 187-201.
- König, B., Bergman, U., & König, W. (1992). Induction of inflammatory mediator release (serotonin and 12-hydroxyeicosatetraenoic acid) from human platelets by *Pseudomonas aeruginosa* glycolipid. *Infection and Immunity* , 60 (8), pp. 3150-3155.
- Kosaric, N. (2001). Biosurfactants and Their Application for Soil Bioremediation. *Food Technology and Biotechnology* , 39 (4), 295-304.
- Kosaric, N. (1992). Biosurfactants in industry. *Pure & Applied Chemistry* , 64 (11), 1731-1737.
- Lang, S., & Philp, J. (1998). Surface-active lipids in Rhodococci. *Antoine Van Leeuwenhoek* (74), pp. 59-70.
- Leeuwen, F. R. (2000). Safe drinking water: toxicologist approach. *Food and Chemical Toxicology* , 38.
- Lourith, N., & Kanlayavattanakul, M. (2009). Natural surfactants used in cosmetics : glycolipids. *International Journal of Cosmetic Science* (31), pp. 255-261.
- Ma, X., Li, H., & Song, X. (2012). Surface and biological activity of sophorolipid molecules produced by *Wickerhamiella domercqiae* var. *sophorolipid* CGMCC 1576. *Journal of Colloid and Interface Science* , 376, pp. 165-172.
- Malfanova, N., Franzil, L., Lugtenberg, B., Chebotar, V., & Ongena, M. (2012). Cyclic lipopeptide profile of the plant-beneficial endophyte bacterium *Bacillus subtilis* HC8. *Archives of Microbiology* , 194, pp. 893-899.

- Martins, I., & Lima, I. (2001). *Ecotoxicologia do SLS*. Centro de Recursos Ambientais - CRA.
- Meira, J. (2007). Produção de Biosurfactantes por Fermentação no Estado Sólido e Desenvolvimento de Aplicações para Tratamento de Solos Contaminados por Hidrocarbonetos. *Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Paraná*. Curitiba.
- Mulligan, C., & Gibbs, B. (1993). Factors influencing the economics of biosurfactants. In N. Kosaric, *Biosurfactants: Production, Properties, Applications* (pp. 329–371). New York: Marcel Dekker.
- Mulligan, C., Yong, N. R., & Gibbs, F. B. (2001). Surfactant-enhanced remediation of contaminated soil: a review. *Engineering Geology*, *60*, 371-380.
- Myers, D. (2005). *Surfactant Science and Technology* (3rd ed.). Hoboken: John Wiley & Sons.
- Nitschke, M., & Pastore, G. M. (2002). Biosurfactanes: Propriedades e Aplicações. *Química Nova*, *25* (5), pp. 772-776.
- Nitschke, M., Costa, S. G., & Contiero, J. (2011). Rhamnolipids and PHA: Recent reports on Pseudomonas-derived molecules of increasing industrial interest. *Process Biochemistry* (46), pp. 621-630.
- Ortiz, A., Teruel, J., Manresa, A., Espuny, M., Marqués, A., & Aranda, F. (2011). Effects of a bacterial trehalose lipid on phosphatidylglycerol membranes. *Biochimica et Biophysica Acta*, *1808*, pp. 2067-2072.
- Parra, J., Guinea, J., Manresa, M., Robert, M., Mercade, M., Comelles, F., et al. (1989). Chemical characterization and physicochemical behavior of biosurfactants. *Journal of The American Oil chemistry's Society*, pp. 141-145.
- Pileni, M.-P. (2003). The role of soft colloidal templates in controlling the size and shape of inorganic nanocrystals. *Nature materials*, *2*, 145-150.
- Rieger, M. M., & Rhein, L. D. (1997). *Surfactants in Cosmetics* (2nd ed., Vol. 68). New York: Marcel Dekker.
- Rosen, M. J. (2004). *Surfactants and Interfacial Phenomena* (3rd ed.). Hoboken: John Wiley & Sons.
- Rosenberg, E., Rubinovitz, C., Legmann, R., & Ron, E. (1988). Purification and chemical properties of Acinetobacter calcoaceticus A2 biodispersant. *Applied Environmental Microbiology*, *54*, pp. 323-326.
- Sanchez, M., Teruel, J., Espuny, M., Marques, A., Aranda, F., Manresa, A., et al. (2006). Modulation of the physical properties of dielaidoylphosphatidylethanolamine membranes by a dirhamnolipid biosurfactant produced by Pseudomonas aeruginosa. *Chemistry and Physical Lipids*, pp. 118-127.
- Soberón-Chavéz, G., Lépine, F., & Déziel, E. (2005). Production of rhamnolipid by pseudomonas aeruginosa. *Applied Microbiology Biotechnology* (68), pp. 718-725.

- Sparg, S. G., Light, M. E., & van Staden, J. (2004). Biological activities and distribution of plant saponins. *Journal of Ethnopharmacology* (94), pp. 219-243.
- Sparg, S. G., Light, M. E., & van Staden, J. (1995). The nutritional and biological significance of saponins. *Nutrition Research* , 15 (8), pp. 1223-1249.
- Syldatk, C., Lang, S., Wagner, F., Wray, V., & Witte, L. (1985). Chemical and physical characterization of 4 interfacial-active rhamnolipids from *Pseudomonas spec Dsm 2874* grown on normal-alkanes. *Zeitschrift fur Naturforschung C-A Journal of Biosciences* , pp. 51-60.
- Thanomsub, B., Pumeechockchai, W., Limtrakul, A., Arunrattiyakorn, P., Petchleelaha, W., Nitoda, T., et al. (2006). Chemical structures and biological activities of rhamnolipids produced by *Pseudomonas aeruginosa* B189 isolated from milk factory waste. *Bioresource Technology* , 97, pp. 2457-2461.
- Van Bogaert, I., Zhang, J., & Soetaert, W. (2011). Microbial synthesis of sophorolipids. *Process Biochemistry* , 46 (4), pp. 821-833.
- Vandeputte, J. (2009). Agro-Tensioactifs. *Fiche Privé N°3*. Pôle de compétitivité à vocation mondiale Industries & Agro-Ressources (IAR).
- Vincken, J.-P., Heng, L., de Groot, A., & Gruppen, H. (2007). Saponins, classification and occurrence in the plant kingdom. *Phytochemistry* (68), pp. 275-297.
- Wabel, C. (1998). Influence of lecithin on structure and stability of parental fat emulsions. *Tese de Doutorado. Faculdade de Ciências da Natureza da Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg* . Frankfurt am Main.
- Wagner, F., Bock, H., & Kretschmar, A. (1980). Fermentation: II. In: R. Lafferty (Ed.), *Rotenburger Symposium 1980* (pp. 181-192). Viena: Springer Verlag.
- Yamamoto, S., Morita, T., Fukuoka, T., Imura, T., Yanagidani, S., Sogabe, A., et al. (2012). The moisturizing effects of glycolipid biosurfactants, monnosylerythritol lipids, on human skin. *Journal of Oleo Science* , 61 (7), pp. 407-412.
- Yamane, T. (1987). Enzyme technology for the lipids industry: An engineering overview. *Journal of American Oil Chemistry's Society* , 64, p. 1657.
- Zana, R., & Xia, J. (2004). *Gemini surfactants : Synthesis, Interfacial and Solution-Phase Behavior, and Applications* (Vol. 117). New York: Marcel Dekker.
- Zeisel, S. (2000). Choline: Needed for normal development of memory. *Journal of the American College of Nutrition* (19), pp. 528-531.
- Zhang, J., Gorkovenko, A., Gross, R., Allen, A., & Kaplan, D. (1997). Incorporation of 2-hydroxyl fatty acids by *Acinetobacter calcoaceticus* RAG-1 to tailor emulsan structure. *International Journal of Biological Macromolecules* , 20, pp. 9-21.