



Mikrobiyal biosürfektanlar: yüzey aktif bileşikler

*Fatma Neslihan YÜKSEL¹, Mustafa AKÇELİK¹

¹ Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü

ÖZET

Sürfektanlar, günlük yaşamda yaygın olarak kullanılan yüzey aktif ajanlardır. Kontaminant çözünürlüğünü arttırabilen sürfektanların sentetik olanları çoğunlukla toksik olup ek kontaminasyon kaynakları oluştururken, biyosürfektanlar, yenilenebilir kaynaklardan elde edilmeleri, düşük toksiteye sahip olmaları ya da toksik olmamaları, biyolojik olarak parçalanabilir olmaları gibi özelliklerinden ötürü daha avantajlı kullanım alanlarına sahiptir. Biyosürfektanlar, çok iyi derecede yüzey aktivitesine sahiptir, tekrar kullanılabilir, aşırı sıcaklık ve pH koşulları altında etkinlerini sentetik sürfektanlara kıyasla daha uzun süre muhafaza edebilir. Biyosürfektanlar, sıvıların yüzey ve arayüzey gerilimini azaltan özelliklere sahiptir. Biyosürfektanların önemli fonksiyonları arasında; patojenik organizmaların birçoğuna karşı antimikrobiyal ve antifungal aktivite göstermelerinin yanı sıra; çözme, emülsifiye etme, dağıtma, ıslatma, köpürme ve deterjan gibi fonksiyonları da bulunmaktadır. Bu derleme çalışmasında farklı mikrobiyal sürfektanlar ve bu sürfektanların endüstriyel ve biyomedikal uygulama alanları hakkında literatür bilgileri tartışılmıştır.

Anahtar Kelimeler:

Biosürfektan, antibakteriyel, antifungal, endüstriyel uygulama, biyomedikal uygulama

Microbial biosurfactants: surface active agents

ABSTRACT

Surfactants, surface active compounds, are one of the most common used agents in daily life. While synthetic surfactants which are able to increase the contaminant solubility are often toxic, representing an additional source of contamination, biosurfactants offer advantages rather than synthetic surfactants due to their derivation from renewable resources, low or non-toxicity, biodegradability. Biosurfactants that has excellent surface activity are reusable and able to maintain their effectiveness under extreme temperature and pH conditions. They have the unique property of reducing the surface and interfacial tension of liquids. The major functions of biosurfactants includes solubilization, emulsification, dispersion, wetting, foaming, and detergent capacity, as well as antimicrobial and antifungal activity against a number of pathogenic organisms. In this review we have discussed the literature about different microbial surfactants and their industrial and biomedical applications.

Key Words:

Biosurfactant, antibacterial, antifungal, industrial applications, biomedical applications

1. Giriş

Biyosürfektanlar çeşitli mikroorganizmalar tarafından üretilen yüzey aktif moleküllerdir. Mikrobiyal olarak üretilen bu bileşikler, birbirine karışmayan iki sıvı faz arasındaki yüzey ve arayüzey gerilimini azaltırlar. Glikolipitler, lipopeptitler ve lipoproteinler, yağ asitleri, nötral yağlar, fosfolipitler, polimerik ve partükül lipitler gibi kimyasal yapılarla doğada bulunurlar. Çevre dostu olmalarından dolayı sentetik sürfektanlara göre daha avantajlıdırlar. Genellikle petrol hammadesinden üretilen kimyasal sürfektanların aksine, mikrobiyal sürfektanlar ucuz zirai materyaller kullanılarak üretilebilir. Bu özellik biyosürfektan üretimini ucuz kılmakta ve atık substratların çevreye olan etkilerinin azalmasında önemli rol oynamaktadır. Biyosürfektanların aşırı sıcaklık, pH ve tuzlulukta stabil olmaları, kimyasal olarak sentezlenen sürfektanlara göre ticari olarak üstünlük sağlamaktadır. Bu özellikler biyosürfektanları; gıda üretim süreci, farmakolojik formülasyon ve çevresel biyolojik yenilenmede yağların geri kazanımı gibi çeşitli endüstriyel süreçlerde ilgi çekici kılmaktadır. Klasik uygulamalar dışında [1] biyosürfektanların; antibakteriyel, antifungal, antitümör, antimikoplasmik, antiviral ve insektisidal özellikler sergiledikleri belirlenmiştir. [2, 3, 67]. Bu moleküller çoklu ilaç dirençli çeşitli patojenlere karşı potansiyel ilaç molekülleri olarak değerlendirilmiştir [4]. Bu gibi avantajlara sahip olmalarına rağmen, hücrese seviyede düşük ürün vermelerinden dolayı ticari olarak yaygın bir şekilde kullanılmamaktadırlar. Bu nedenle üretimi arttırmak için mutant ya da rekombinant suşların kullanım çalışmaları yürütülmektedir. Gelişme ortamı ve çevresel koşulların optimize edilmesiyle üretimde önemli bir artış sağlanmasına rağmen [5], üretimlerinin artmasındaki gerçek buluş yüksek üretici rekombinant ve mutant türlerin kullanılmasıyla sağlanabilmiştir. Bu yüksek üretici suşların kullanımı ve geliştirilmesi ancak üreticilerin genetiğinin anlaşılmasıyla gerçekleşecektir [6].

2. Biyosürfektanların genel özellikleri

Biyosürfektanlar mikroorganizmalar tarafından üretilen, yapısal olarak farklı gruplara sahip yüzey aktif maddelerdir. Tüm biyosürfektanlar amfifilik olup, polar (hidrofilik) kısım ve polar olmayan (hidrofobik) kısım olarak iki ana gruptan oluşur. Hidrofilik grup mono-, oligo- veya polisakkarit, peptit ya da proteinlerden oluşurken, hidrofobik grup ise genellikle doymuş, doymamış veya hidroksillenmiş yağ asitlerinden oluşmaktadır [7].

Biyosürfektanlar, amfifilik yapılarından dolayı polar ve polar olmayan ortamlarda bulunabilirler. Böylelikle karışmayan iki sıvı ya da katı-sıvı arayüzeylerde birikirler. Bu yüzey ve arayüzeylerde sürfektan birikmesi, farklı fazlar arasındaki itici güçlerin azalmasına ve bu fazların kolaylıkla karışarak daha kolay etkileşimde olmasına izin vermektedirler. Özellikle yüzey (sıvı-hava) ve arayüzey (sıvı-sıvı) gerilimini azaltmaktadırlar [1, 8].

Sürfektan monomerleri bir solüsyona eklendiğinde, misel formları oluşturarak yüzey ve arayüzey gerilimini kritik misel konsantrasyonu (KMK) olarak adlandırılan misellerin kendiliğinden oluştuğu sürfektan konsantrasyonuna kadar azaltır. Biyosürfektan aktivitesi, KMK değerine gelene kadar yüzey aktif bileşiğin konsantrasyonuna bağlıdır. KMK'nın üzerinde,

uygun konsantrasyonlara ulaşan moleküller misel, iki tabakalı katman ve vesikül gibi agregat yapılarını oluştururlar. KMK değeri; solüsyonun pH'ına, iyonik gücüne, sıcaklığına ve sürfektan yapısına bağlıdır [8]. Misel oluşumu, biyosürfektanların yüzey ve arayüzey gerilimini azaltmasına ve hidrofobik organik bileşiklerin biyoelverişliliğinin ve çözünürlüğünün artmasına olanak sağlamaktadır [9]. KMK genellikle sürfektan etkinliğini ölçmek için kullanılmaktadır. Etkin bir biyosürfektan düşük bir KMK değerine sahiptir ve bu da düşük miktarlardaki biyosürfektanın yüzey gerilimini azaltmaya yeterli olabileceği anlamına gelmektedir. Biyosürfektanların KMK'sı, kimyasal sürfektanlardan 10-40 kat daha düşüktür [1, 10].

Birçok biyosürfektanın yapısı ve bunların yüzey aktiviteleri; sıcaklık ve pH değişikliği gibi çevresel koşullardan etkilenmez. McInerney ve ark. (1990), *Bacillus licheniformis* JF-2 likeninin biyosürfektanının 50 °C'nin üzerindeki sıcaklıktan, 4.5-9.0 pH aralığından, 50 g/L NaCl ve 25 g/L Ca konsantrasyonlarından etkilenmediğini göstermiştir. *B. subtilis* LB5a suşunun lipopeptidi ile yapılan çalışmalar ise, bu sürfektanın 20 dk. 121 °C'de otoklavlanıp, -18 °C'de 6 ay bekletildikten sonra stabil olduğunu ve ayrıca yüzey aktiflik özelliğinin pH 5 ila 11 arasında, % 20 NaCl ve üzerindeki konsantrasyonlarda değişmediğini göstermiştir [11]. *Arthrobacter protophormiae* suşundan elde edilen biyosürfektanın ise; termostabil (30-100 °C) ve (pH 2-12) stabil olduğu gösterilmiştir [12, 13].

Mikrobiyal biyosürfektanların toksisitesi hakkında çok az literatür bilgisi bulunmaktadır. Genellikle düşük toksisiteye sahip ya da toksik olmayan ürünler olup, eczacılık kozmetik ve gıda kullanımı için uygundur. *Pseudomonas aeruginosa* biyosürfektanı, endüstride sıklıkla kullanılan ve sentetik bir sürfektan olan Marlon A-350 ile toksiklik ve mutajenik özellikler bakımından karşılaştırılmıştır. Her iki analizde de kimyasal kaynaklı sürfektanın yüksek toksisite ve mutajenite etkisi olduğu belirlenirken, biyosürfektanın toksik ve mutajenik olmadığı saptanmıştır [14]. Sentetik sürfektanlar (Corexit, 9500, Triton X-100, PES-61), mikrobiyolojik kaynaklı sürfektanlar (ramnolipit, emülsan, biyolojik temizleyici PES-51) ile akut ve kronik toksisite bakımından karşılaştırıldığında; genellikle yağ iyileştirilmesinde kullanılan PES-61 (sentetik) ve emülsanın (biyosürfektan) düşük toksisiteye sahip olduğu belirlenirken, Triton X-100'ün (sentetik) yüksek oranda toksik olduğu belirlenmiştir [15].

3. Biyosürfektanların sınıflandırılması ve kimyasal yapıları

Kimyasal olarak sentezlenen sürfektanlar sudaki çözünürlüklerine göre sınıflandırılırken, biyosürfektanlar; kimyasal bileşimlerine, moleküler ağırlıklarına, fizikokimyasal özelliklerine, etki biçimlerine ve mikrobiyal orjinlerine göre kategorize edilmektedirler. Moleküler ağırlıklarına göre; glikolipitler, fosfolipitler ve lipopeptitleri içeren düşük moleküler ağırlıklı biyosürfektanlar ile amfipatik polisakkaritler, proteinler, lipopolisakkaritler, lipoproteinler ya da bu polimerlerin kompleks karışımlarını içeren yüksek moleküler ağırlıklı biyosürfektan/biyoemülsifiyer olarak iki sınıfa ayrılırlar. Düşük moleküler ağırlıklı biyosürfektanlar yüzey ve arayüzey gerilimini düşürerek etki ederken, yüksek moleküler ağırlıklı biyosürfektanlar sudaki yağ emülsiyonunu stabilize etmede etkilidir [16, 17, 18]. Biyosürfektan örnekleri ve üretici mikroorganizmalar Tablo 1'de detaylandırılmıştır.

Tablo 1. Biyosümfektanların sınıflandırılması ve üretildiği mikroorganizmalar [1, 10, 18].

Biyosümfektan		Mikroorganizma
Grup	Sınıf	
Glikolipitler	Ram nolipitler	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>P. chlororaphis</i>
	Trehalolipitler	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> , <i>Rhodococcus erythropolis</i> , <i>Arthrobacter</i> sp., <i>Nocardia</i> sp., <i>Corynebacterium</i> sp.
	Soforolipitler	<i>Torulopsis bombicola</i> , <i>Torulopsis petrophilum</i> , <i>Torulopsis apicola</i> , <i>Candida</i> sp.
	Mannosileritritol lipitler	<i>Pseudozyma aphidis</i> <i>Ustilago maydis</i>
Yağ asitleri, fosfolipitler ve nötral yağlar	Korinomikolik asit	<i>Corynebacterium lepus</i>
	Spikulisporik asit	<i>Penicillium spiculisporum</i>
	Fosfatidilethanomin	<i>Acinetobacter</i> sp., <i>Rhodococcus erythropolis</i>
Lipopeptitler ve lipoproteinler	Sümfaktin/ Suntilisın/Subsporin	<i>Bacillus subtilis</i>
	Likensin	<i>Bacillus licheniformis</i>
	Serravettin	<i>Serratia marcescens</i>
	Viskosin	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
	Gramisidin	<i>Bacillus brevis</i>
	Polimiksin E1	<i>Bacillus polymyxa</i>
	İturin A	<i>Bacillus subtilis</i>
	Putisolvin I ve II	<i>Pseudomonas putida</i>
	Artrofaktin	<i>Arthrobacter</i>
Polimerik biyosümfektanlar	Emülsan	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> RAG-1
	Alasan	<i>Acinetobacter radioresistens</i> KA-53
	Biodisperan	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> A2
	Liposan	<i>Candida lipolytica</i>
	Mannoprotein	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
Partikül sümfektan	Membran vesikülleri	<i>Acinetobacter</i> sp. H01-N
	Fibrin ve tüm hücreler	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>

3.1 Glikolipitler

Glikolipitler, en iyi bilinen biyosülfektan grubudur. Uzun zincirli alifatik asit ya da hidroksialifatik asit kombinasyonundan oluşan karbonhidratlardır. Glikolipitler arasında en iyi bilinen biyosülfektanlar ramnolipitler, trehalolipitler, soforolipitler ve mannosileritritol lipitlerdir [1].

Ramnolipitler, bir ya da iki ramnoz molekülünün β -hidroksidekanoik asit molekülüne bağlanmasıyla oluşan glikolipitlerdir. Ramnozlu glikolipit üretimi ilk olarak *P. aeruginosa*' da tanımlanmıştır [19]. Ramnozlu glikolipitler; L-ramnozil-L-ramnozil- β -hidroksidekanoil- β -hidroksidekanoat ramnolipit 1 ve L-ramnozil- β -hidroksidekanoil- β -hidroksidekanoat ramnolipit 2 olarak adlandırılır. Glukoz, gliserol ya da trigliserit ortamında genellikle *P. aeruginosa* tarafından üretilir [7]. Ramnolipit 3 ve 4 ise; β -hidroksidekanoik asit ile sırasıyla 1 ve 2 ramnoz ünitesi içerir. *P. aeruginosa*' dan elde edilen ramnolipitlerin *n*-heksadekana karşı arayüzey gerilimini 1 mN/m' ye, yüzey gerilimini ise 25-30 mN/m' ye düşürdüğü belirlenmiştir [20, 21, 22].

Trehalolipit yapıdaki mikrobiyal biyosülfektanların pek çok yapısal tipi belirlenmiştir [21, 23]. *Mycobacterium*, *Nocardia* ve *Corynebacterium* gibi bakteri cinslerinde disakkarit trehaloz, mikolik aside C-6 ve C-6' ile bağlantılıdır. Mikolik asitler uzun zincirli α -dallanmış β -hidroksi yağ asitleridir. Trehalolipitler farklı organizmalardaki farklı boyutlardaki ve yapıdaki mikolik asit, karbon atomu sayıları ve doymamışlık derecesine göre oluşmaktadır. *Rhodococcus erythropolis* tarafından üretilen trehaloz dimikolat yaygın olarak çalışılmıştır. *R. erythropolis* ve *Arthrobacter* sp.' den elde edilen trehaloz lipitler, kültür ortamındaki yüzey ve arayüzey gerilimlerini sırasıyla 25-40 mN/m ve 1-5 mN/m' ye düşürmektedirler [1, 24].

Genellikle *Torulopsis bombicola*, *T. petrophilum* ve *T. apicola* gibi mayalar tarafından üretilen soforolipitler, dimerik karbonhidrat soforozun uzun zincirli hidroksi yağ asidi ile bağlanmasıyla oluşmaktadır. Bu biyosülfektanlar en az 6 ila 9 farklı hidrofobik soforolipit karışımlarıdır. Suda çözünabilir sofolipitlerin benzer karışımları pek çok mayada belirlenmiştir. Soforolipitler yüzey ve arayüzey gerilimini düşürebilirken, emülsifiye edici etkiye sahip değillerdir. Laktonik ve asidik soforolipitler *n*-heksadekan ve su arasındaki arayüzey gerilimini 40 mN/m' den 5 mN/m' ye düşürürler ve pH ve sıcaklık değişimlerinde stabildirler [21, 25].

3.2 Lipopeptit ve lipoproteinler

Bacillus brevis ve *B. polymyxa* tarafından üretilen dekapeptit (gramisidin) ve lipopeptit (polimiksin) antibiyotikler yüzey aktif özelliklere sahiptirler. *B. subtilis* ATCC 21332 suşu tarafından üretilen siklik lipopeptit sülfaktin, en etkili biyosülfektanlardan biridir. *B. licheniformis*; sıcaklık, pH ve tuz stabilitesine sahip birçok biyosülfektan üretmektedir [12, 26]. *B. licheniformis* 86 tarafından üretilen sülfektan BL-86, suyun yüzey gerilimini 27 mN/m' ye, su ve *n*-heksadekan arasındaki arayüzey gerilimi ise 0.36 mN/m' ye düşürebilmektedir [27].

çok yağ, alkan ve organik solventlere karşı emülsifiyer aktivite gösterdiğini tanımlamışlardır. Saflaştırılan emülsifiyerin % 44

Yapısal analizler sonucu, 979 ila 1091 Da büyüklüğündeki majör komponentler ile lipopeptit karışımları belirlenmiştir. Her bir molekül 7 amino asit ve 8-9 metilen grup ile düz ya da dallanmış kuyruktan oluşan lipit bölümlerinden meydana gelmektedir [28]. Yağ asidi zincirinin uzunluğu sülfaktinler için; C13-C16 arasında değişirken, iturinler için C14-C17 ve fengisinler için C14-C18 olup farklı homolog bileşikler oluşmuştur. Bu bileşiklerin bir diğer önemli özelliği ise; memeli eritrositlerini lize edebilme ve sferoplast oluşturabilme yeteneğine sahip olmalarıdır. Bu özellik kanlı agardaki hemoliz ile sülfaktin üretiminin belirlenmesinde kullanılmaktadır [1, 7].

3.3 Yağ asitleri, posfolipitler ve nötral lipitler

Birçok bakteri ve maya, *n*-alkanlardaki gelişimleri esnasında büyük miktarlarda yağ asitleri ve fosfolipit yapıdaki sülfektanları üretmektedirler. *Acinetobacter* sp. HO1-N suşu suda alkan mikroemülsiyonlarını oluşturan fosfatidiletanomin üretmektedir [29].

Fosfolipitlerin kantitatif üretimi bazı *Aspergillus* spp. ve *Thiobacillus thiooxidans* türlerinde belirlenmiştir. *Arthrobacter* AK-19 ve *P. aeruginosa* 44T1, heksadekan ve zeytinyağında kültüre alındığında bu gibi lipitleri sırasıyla % 40 – 80 (w/w) oranında biriktirmiştir. *n*-alkan' da geliştirilen *R. erythropolis* tarafından üretilen fosfatidiletanominin su ve heksadekan arasındaki arayüzey gerilimini 1 mN/m' den daha aza, KMK değerini ise 30 mg/litre' ye düşürdüğü gösterilmiştir [30].

3.4 Polimerik biyosülfektanlar

En fazla çalışılan polimerik biyosülfektanlar; emülsan, alasan, biyodispersan, liposan ve mannoptein diğer polisakkarit-protein kompleksleridir. *Acinetobacter calcoaceticus* RAG-1, emülsan olarak adlandırılan polianiyonik amfifilik heteropolisakkarit biyoemülsifiyer üretmektedir [31]. Heteropolisakkarit omurga; *N*-asetil-D-galaktozaminin tekrarlı trisakkaritleri, *N*-asetilgalaktozamin üronik asit ve tanımlanmamış *N*-asetil amino şekerinden oluşmaktadır. Yağ asitleri *o*-ester köprüleri sayesinde polisakkaritlere kovalent olarak bağlıdır. Emülsan, % 0.001 ila 0.01 kadar düşük konsantrasyonlarda bile sudaki hidrokarbonlar için oldukça etkili bir emülsifiye edici ajandır [1, 32].

A. calcoaceticus A2 tarafından üretilen biyodispersan, anyonik heteropolisakkarit yapıda bir biyosülfektan olup glukozamin, 6-metilaminohekskoz, galaktozamin üronik asit ve tanımlanmamış bir amino şekerinden oluşur [33].

Navonvenezia ve ark. (1995), *A. radioresistens* KA-53 suşundan izole edilen anyonik alaninli heteropolisakkarit protein yapıda bir biyosülfektan (alasan) tanımlamış ve nötral ya da alkali koşullar altında 100 °C' de ısıtıldıktan sonra 2. 5-3 kat daha aktif olduğunu belirlemişlerdir [1, 34].

Lipozan, *Candida lipolytica* tarafından sentezlenen hücre dışı suda çözünabilir bir emülsifiyerdir ve % 83 (w/v) karbonhidrat ile % 17 (w/v) proteinden oluşur. Karbonhidrat kısmı glukoz, galaktoz, galaktozamin ve galaktronik asitten oluşan bir heteropolisakkarittir [35].

Cameron ve ark. (1988), *Saccharomyces cerevisiae*' in çok miktarda mannoptein üretimini belirlemiş ve bu proteinin pek

Yüksel ve Akçelik, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 31(3):

mannoz ve % 17 proteinden oluştuğu saptanmıştır [36]. Kappeli ve ark. (1984), alkanda gelişen *Candida tropicalis* tarafından üretilen manan-yağ asidi kompleksini izole etmiştir ve bu kompleksin sudaki hegzadekan emülsiyonlarını stabilize ettiğini kanıtlamıştır [37]. *Schizonella malanogramma* ve *Ustilago maydis* tarafından üretilen biyosülfektanlar eritritol- ve mannoz- lipitler olarak karakterize edilmiştir [38]. Kitamoto ve ark. (1993) ise; *Candida antarctica* T-34 suşunda iki çeşit mannosileritritol lipidinin (MEL-A ve MEL-B) üretildiğini gözlemlemiştir [1, 39].

3.5 Partikül biyosülfektanlar

Hidrokarbonları parçalayan hücre dışı membran kesecikleri, alkanda önemli rol oynayan mikroemülsiyonları oluşturmaktadırlar. *Acinetobacter* sp. HO1-N suşunun keseciği, 20-50 nm çapında ve 1.158 g/cm³ batmayan yoğunlukta olup protein, fosfolipit ve lipopolisakaritten oluşmaktadır [29].

Hidrokarbonları metabolize eden ve patojenik olan birçok bakterideki sülfektan aktivitesi, Grup A Streptokoklardaki M protein ve lipoteikoik asit, *Staphylococcus aureus*'da bulunan protein A, *Aeromonas salmonicida*'da bulunan A katmanı, *Serratia* spp.'de prodigiosin, *Bacillus brevis* sporlarında bulunan gramisidin ve *A. calcoaceticus* RAG-1'de bulunan ince fimbriya gibi örnekleri temsil eden hücre yüzey bileşenleri ile ilişkilidir [21, 40, 41, 42].

6. Mikrobiyal sülfektan uygulamaları

Biyosülfektanlar, sentetik sülfektanlara göre daha az toksik olması ve biyolojik olarak parçalanabilmesi gibi çeşitli fonksiyonel özelliklere sahip olmalarından dolayı pek çok endüstriyel uygulamada kullanım için dikkat çekici bileşiklerdir. Gıda, biyomedikal, eczacılık endüstrisi, organik ve inorganik bileşiklerin biyolojik ıslahı, çevresel kontrol, hidrokarbon ve yağ kontaminasyonlu çevreden ağır metallerin uzaklaştırılması gibi endüstriyel süreçlerde kullanılmaktadır (Tablo 2). Glikolipitler ve lipopeptitler ticari en önemli biyosülfektanlardır. Shete ve ark. (2006), petrol endüstrisi (% 33), kozmetik (% 15), antimikrobiyal ajan ve ilaç (%12) ve biyolojik ıslahda (% 11) kullanılan biyosülfektan ve biyoemülsifiyer patentlerini belirtmiştir. Patentlerin büyük çoğunluğunu soforolipitler (% 24), sülfaktin (% 13) ve ramnolipitler (% 12) oluşturmaktadır [43, 44, 45].

6.1 Biyomedikal ve terapötik uygulamalar

Amfifilik yapılarından dolayı çevresel uygulamalarda sıklıkla kullanılan biyosülfektanların biyomedikal alanda kullanımları son on yılda sürekli artış göstermiştir. Yüzey alanını arttırmaları, hidrofobik suda çözünmeyen substratların biyolojik kullanılabilirliği, ağır metallere bağlanabilme, bakteriyel patojenite, sinyal iletim sistemi ve biyofilm oluşumunu engelleme gibi rollere sahip olan biyosülfektanlar; antibakteriyel, antifungal ve antiviral aktiviteleri sayesinde terapötik ajan olarak çoğu hastalık ile mücadelede kullanım için uygun moleküllerdir. Pek çok patojene karşı anti-adheziv

özellikleri sayesinde sentetik ve kimyasal ilaç kullanılmaksızın hastane enfeksiyonlarının büyük çoğunluğunun azalmasında medikal materyaller için anti-adheziv katman ajanı olarak kullanılabilirliği artmaktadır [3]. Bazı biyosülfektanlar sentetik ilaçlara ve antimikrobiyal ajanlara alternatif olarak etkili terapötik ajanlar olarak kullanılabilir. Bu nedenle insan, hayvan hücre ve hücre hatlarına biyosülfektanların etkisini araştıran çalışmalara ilgi giderek artış göstermektedir (Tablo 2) [46].

Biyosülfektanlar arasında lipopeptitler, yüksek yüzey aktivitesine ve antibiyotik özelliğine sahip olması nedeniyle ilgi çekmektedir. Lipopeptitler; antibiyotik, antiviral ve antitümör ajanlar, immunomodülatör ya da toksin ve enzim inhibitörleri gibi davranmaktadırlar. *B. subtilis* tarafından üretilen iturin A ilk rapor edilen antimikrobiyal ve antifungal aktiviteye sahip lipopeptittir [47]. İturin A'nın etki mekanizması; küçük bir kesecik oluşumu ve membranlar arasında toplanmasıyla plazma membranının bozulması sonucu gerçekleşir. Plazma membranını geçerek nükleer membran ve diğer sitoplazmik organel membranları ile etkileşime girer. Aynı zamanda biyomoleküler lipit membranların elektrik iletkenliğini artırırlar. İturin A'nın mantar hastalığına karşı antifungal etkiye sahip olduğu belirlenmiştir [48].

Sülfaktin, bakteriyel protoplast ve zarflı virüsler gibi biyomembran sistemlerine etki etmektedir. Antifungal ve antibakteriyel özelliklerinin yanı sıra; fibrin oluşumunun inhibisyonu, lipit membrandaki iyon kanalı oluşumunun indüklenmesi, siklik adenosin monofosfat inhibisyonu, trombosit ve dalak sitosolik fosfolipaz A2 (PLA2) inhibisyonu, antiviral ve anti tümör aktiviteleri gibi pek çok biyolojik aktiviteye sahiptir [49]. Sülfaktin, 'Semliki Forest' virüs, herpes virüsü (HSV), veziküler ağız iltihabı virüsü, maymun immunodefektif virüs, kedi kalısivirüs ve fare ensefalomiyokardit virüse karşı aktiftir. Herpes ve retrovirüsler gibi zarflı virüslerin inaktivasyonu, zarflı olmayan virüslere göre daha etkilidir [46].

Candida suşları tarafından üretilen glikolipit yapıdaki mannosileritritol lipitler (MEL) antimikrobiyal, immunolojik ve nörolojik özellik göstermektedir. Kitamoto ve arkadaşları (1993), MEL biyosülfektanlarının Gram pozitif bakterilere karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiğini belirtmiştir [39]. Isoda ve çalışma arkadaşları (1997) ise; MEL-A, MEL-B, polyol lipit, ramnolipit, soforoz lipit, STL-1 ve STL-3 süksinoyiltrehaloz lipitlerini içeren hücre dışı mikrobiyal glikolipitlerin biyolojik aktivitesini araştırmıştır. Ramnolipitlerin haricinde tüm diğer glikolipitlerin insan promiyelositik lösemi hücre hattı HL60' da hücre çoğalması yerine hücre farklılaşmasını uyarmıştır. STL ve MEL biyosülfektanlarının farklılaşmayı indükleyen aktivitesi, deterjan benzeri etki yerine plazma membranı ile spesifik bir etkileşim ile gerçekleştiği belirtilmiştir. Ayrıca *Rhodococcus erythropolis* tarafından üretilen süksinoyil trehaloz lipitlerin, HSV ve influenza virüsünü inhibe ettiği belirlenmiştir [46, 50, 51].

Toplardamar kataterleri, üriner kataterler, prostetik kalp kapakçıkları, ortopedik cihazlar ile ilişkili olan çeşitli hastane kaynaklı enfeksiyonlar, materyal yüzeyine tutunan biyofilmler ile ilişkilidir. 'Swarming' ve biyofilm oluşumu bakterilerin yüzey kolonizasyonunun oluşmasında ve hastane enfeksiyonlarının artmasında anahtar rol oynar. Biyosülfektanların, katı yüzeylerde ya da enfeksiyon ortamında patojen organizmaların adhezyonunu inhibe ettiği belirlenmiştir.

Tablo 2. Biosürfektan uygulamaları

Endüstri	Uygulama	Biyosürfektanın rolü
Petrol	Yağ iyileştirilmesinin artırılması	Silindir kuyu içindeki yağ dirençini geliştirme, kapiller içine sıkışmış yağların serbest kalmasını sağlama, katı yüzeylerin ıslatılması, yağ viskozitesinin ve yağ akış özelliğinin azalması, arayüzey geriliminin azalması ve yağların çözünmesi
	De-emülsifikasyon	Yağ emülsiyonlarının de-emülsifikasyonu, yağların çözünmesi, viskozitenin azalması, ıslatıcı madde
Çevresel	Biyolojik ıslah	Hidrokarbonların emülsifikasyonu, arayüzey geriliminin düşürülmesi, metal ayrılması
	Yağların iyileştirilmesi ve yıkanması	Hidrokarbonlara tutunarak emülsifikasyon, dağıtım, köpüren ajan, deterjan ve katı maddelerin yıkanması
Gıda	Emülsifikasyon ve de-emülsifikasyon	Emülsifiyer, çözücü, de-emülsifiyer, süspansiyon, ıslatıcı, köpürme, yoğunlaştırıcı ve yağlayıcı ajan
	Fonksiyonel bileşen	Lipit, protein ve karbohidratların etkileşimi, koruyucu ajan
Biyolojik	Mikrobiyolojik	Hücre hareketliliği, hücreler arası iletişim, nutrientlerin ulaşımı, hücrelerin rekabeti, bitki ve hayvan patogenezi gibi fizyolojik davranışlar
	Eczacılık ve tedavi	Antibakteriyel, antifungal, antiviral ajanlar, adheziv ajanlar, immun modülatör moleküller, aşı maddesi, gen terapi
Tarım	Biyolojik kontrol	Parazitlik, antibiyotik, rekabet, sistemik direnç ve hipovirülensliğin uyarılması gibi biyokontrol mekanizmalarının kolaylaştırılması
Biyoişlem	'Down-stream Süreç'	İki fazlı sulu sistemlerin ve mikroemülsiyonların biyokatalizi, biyotransformasyon, hücre içi ürünlerin geri kazanımı, hücre dışı enzimlerin ve fermentasyon ürünlerinin üretiminin artması
Kozmetik	Sağlık ve güzellik ürünleri	Emülsifiyer, köpüren ajan, çözücü, ıslatan ajan, temizlik maddesi, antimikrobiyal ajan, enzim etkisinin ayarlanması

Sürfaktin, vinil üretral kateterlerdeki *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* ve *Proteus mirabilis* biyofilmlerini azaltmaktadır [52]. İnkübasyondan önce sürfaktin solüsyonu ile kateterlerin kaplanması, gelişme ortamına sürfaktin eklenmesi kadar etki göstermiştir. AIDS hastalarında üriner sistem enfeksiyonları gibi fırsatçı enfeksiyonlara neden olan *Salmonella* cinsleri için bu uygulama sonuçları önem taşımaktadır [3].

Katı yüzeylere biosürfektanların ilk adhezyonları, patojen mikroorganizmaların kolonizasyonu ile savaş anlamına gelmektedir. *P. fluorescens* biosürfektanının, politetrafloroetilen ve paslanmaz çelik yüzeylere *Listeria monocytogenes* LO28 suşunun adhezyonunu inhibe ettiği belirlenmiştir [3, 53].

Bunun yanı sıra, ürogenital enfeksiyonların engellenmesi için probiyotik olarak *Lactobacilli* suşlarının kullanılması yaygın olarak çalışılmış ve *L. acidophilus* tarafından üretilen biosürfektanların silikon lastik üzerindeki üropatojen ve maya biyofilmlerini inhibe ettiği belirlenmiştir [46, 54]. Bu bulgular, ürogenital enfeksiyonların engellenmesi için *Lactobacilli* suşlarının probiyotik olarak kullanımları üzerine araştırmaları desteklemiştir. *L. fermentum* RC-14 tarafından salgılanan yüzey aktif bileşikler, *Enterococcus faecalis* gibi üropatojenik bakterilerin adhezyonunu inhibe etmektedir [55]. *Lactobacilli* türleri tarafından üretilen biosürfektanların anti-adheziv özellikleri, üriner ve vajinal sistemler gibi bakterilerin bulunduğu ve kolonize olduğu alanlardaki uygulamalar için etkilidir [56, 57].

6.2 Gıda endüstrisinde biosürfektan kullanımı

Biyolojik olarak parçalanabilir ve toksik olmayan biosürfektanlar; emülsifiye etme, köpürme, ıslatıcı, çözücü, anti-adheziv ve antimikrobiyal karakteristiklerinden dolayı gıda endüstrisinde kullanılmaktadır [3, 58].

Emülsiyon oluşturan formülasyonları gıda üretim sürecindeki uygulamalarda kullanılabilirliğini arttıran önemli bir özelliktir. Az yağlı ürünlere emülsifiyer ilavesi, yapı ve kaymaklılığı geliştirmektedir. Polimerik süर्फektanlar yağ damlacığının etrafını kaplamakta ve tekrar bir araya gelmesini engellemektedirler. Bu özellik özellikle kozmetik ve gıda endüstrisinde yağ/su emülsiyonunda kullanılmaktadır. Günlük ürünlere (peynir ve dondurma) emülsifiyer katkısı doku ve krema oluşumunu sağlamaktadır. Bu özellik düşük yağ oranlı ürünler için özel bir değer sağlamaktadır [16]. *B. subtilis*' den elde edilen bir lipopeptidin soya ve hindistan cevizi yağı ile stabil emülsiyon oluşturabildiği ve böylelikle gıdalarda emülsifiye edici ajan olarak kullanılabilirliği gösterilmiştir [11]. *Candida utilis*' den elde edilen hücre dışı karbonhidratça zengin bir bileşik, salata sosu formüle etmek için emülsifiyer olarak kullanılmıştır [59]. Biosürfektan üretimi için mayaları kullanmak ilgi çekicidir. Bu organizmalar genellikle güvenli (GRAS) mikroorganizmalar grubuna girer ve pek çok gıda üretim sürecinde kullanılmaktadır. Buna karşın fırsatçı *P. aeruginosa* gibi bakterilerden sağlanan ürünlerin halen gıdalarda kullanımları hakkında şüpheler bulunmaktadır [60, 61].

Yüzey ve arayüzey gerilimini azaltarak emülsiyon oluşumu ve stabilize etme rollerinin yanı sıra, süर्फektanlar gıdalarda yağ küreciklerinin toplanması, havalandırma sistemlerini stabilize etme, dokuyu geliştirme ve nişasta ilaveli ürünlerin raf ömrünü arttırma, buğday tohumunun reolojik özelliklerini değiştirmek, yağlı ürünlerin doku ve yoğunluğunu geliştirmek gibi pek çok işleve sahiptirler [62].

Ekmek ve dondurma formülleşmesinde biosürfektanlar yoğunluk sağlarlar ve bayatlamayı engellerler, ayrıca; sıvı ve katı yağların pişirme esnasında sıçramasını engelleyici ve dengeleyici ajanlar olarak kullanılmaktadır [63]. Hamur dengesini, dokusunun ve hacminin geliştirilmesi ve fırın ürünlerinin muhafazası için ramnolipit biosürfektanların ilavesinden yararlanılmaktadır [64]. Araştırmacılar, tereyağ kreması, kruasan ve dondurulmuş şekerleme ürünlerinin özelliklerinin geliştirilmesi için ramnolipitlerin kullanıldığını önermişlerdir. Yakın geçmişte marin suşu olan *Enterobacter cloacae*' dan izole edilen bir biyoemülsifiyerin, gıda endüstrisinde vizkozite artırıcı ajan olarak kullanılabileceğini belirlenmiştir [60, 65].

Gıda endüstrisindeki yüzeylerde bulunan bakteriyel biyofilmler, gıda bozulmasına ve hastalıkların yayılmasına sebep olabilecek potansiyel kontaminasyon kaynaklarıdır. Bundan dolayı gıda üretim sürecinde tek bir mikroorganizma adhezyonuyla önemli ölçüde biyofilm yapıları geliştirebilen *Salmonella* sp. ve *Listeria monocytogenes* gibi patojenlerin varlığına sıfır tolerans verilmektedir. Bu nedenle, gıdalarla temas eden yüzeylere mikroorganizmaların adhezyonunu kontrol altında tutmak tüketicilere kaliteli ve güvenli ürünler sağlamak için gerekli bir basamak olacaktır [60, 66].

7. Sonuç

Biosürfektanlar yüzey aktiflik özelliğe sahip mikrobiyal metabolitlerdir. Glikolipitler, lipopeptitler ve lipoproteinler, yağ asitleri, nötral yağlar, fosfolipitler, polimerik ve partükül lipitler gibi kimyasal yapılarda olan ve mikroorganizmalar tarafından üretilen bu bileşikler birbirine karışmayan iki sıvı faz arasındaki yüzey ve arayüzey gerilimini azaltmaktadırlar. Biosürfektanlar, kimyasal olarak üretilen süर्फektanlara kıyasla daha az toksik veya toksik değildir. Patojen mikroorganizmalara karşı antibakteriyel, antifungal, antiviral etkilerinin olması yanı sıra; emülsifiye etme, çözücü, süspansiyon, ıslatıcı, köpürme, yoğunlaştırıcı, hidrokarbonların emülsifikasyonu ve gıda patojenlerine karşı etki gibi özellikleri bulunmaktadır. Bunlara ilaveten biyolojik olarak parçalanabilir özellikte bulunmaları nedeni ile endüstriyel uygulamalara uyumludurlar. Bu araştırma yazısında mikrobiyal olarak üretilen biosürfektanların endüstriyel ve biyomedikal alanlardaki uygulamalarına yer verilmiştir. Günümüzde biosürfektanların kullanımları bazı özelleşmiş uygulama alanları ile sınırlanmasına karşın; sağlık alanında, petrol endüstrisinde, kozmetik ve gıda endüstrisinde kullanılabilen biosürfektan pazarı gelişme göstermektedir. Biosürfektan üreticisi olan suşların biyokimyası, genetiği ve fizyolojisi üzerine geniş bilgiye ihtiyaç vardır. Hücresel seviyede düşük ürün elde edilmesinden dolayı üretimlerini arttırmak ve üretim maliyetini düşürmek için için rekombinant çalışmalar üzerine yoğunlaşılmalıdır.

Kaynaklar

- Desai, J.D., Banat, I.M., Microbial production of surfactants and their commercial potential. *Microbiol Mol Biol Rev*, 61, 47-64, 1997.
- Cameotra, S., and Makkar, R., Recent applications of biosurfactants as biological and immunological molecules. *Current Opinion in Microbiology*, 7, 262-266, 2004.
- Singh, P., Cameotra, S., Potential applications of microbial surfactants in biomedical sciences. *Trends Biotechnol*, 22, 142-146, 2004.
- Das, P., Mukherjee, S., and Sen, R., Antimicrobial potential of a lipopeptide biosurfactant derived from a marine *Bacillus circulans*. *Journal of Applied Microbiology*, (doi:10.1111/j.1365-2672.2007.03701.x), 2008.
- Sen, R., Swaminathan, T., Application of response-surface methodology to evaluate the optimal environmental conditions for the enhanced production of surfactin. *Appl Microbiol/Biotechnol*, 47, 358-363, 1997.
- Mukherjee, S., Das, P., and Sen, R., Towards commercial production of microbial surfactants. *Trends in Biotechnology*, 24, 509-514, 2006.
- Lang, S., Biological amphiphiles (microbial biosurfactants), *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 7, 12-20, 2002.
- Soberón-Chávez, G., Maier, R., M., Biosurfactants: a general overview. In *Biosurfactants*; Soberón-Chávez, G., (eds), Springer-Verlag, 1-11, Berlin, Germany, 2011.
- Whang, L.M., Liu, P.W.G., Ma, C.C., Cheng, S.S., Application of biosurfactant, rhamnolipid, and surfactin, for enhanced biodegradation of diesel-contaminated water and soil. *J. Hazard. Mater*, 151, 155-163, 2008.
- Pacwa-Płociniczak, M., Płaza, G.A., Piotrowska-Seget, Z., and Cameotra, S.S., Environmental applications of biosurfactants: Recent Advances, *Int. J. Mol. Sci*, 12, 633-654, 2011.

11. Nitschke, M., Pastore, G.M., Production and properties of a surfactant obtained from *Bacillus subtilis* grown on cassava wastewater. *Bioresource Technology*, 97, 336-341, 2006.
12. McInerney, M.J., Javaheri, M., Nagle, D.P., Properties of the biosurfactant produced by *Bacillus liqueniformis* strain JF-2. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 5, 95-102, 1990.
13. Pruthi, V., Cameotra, S.S., Production, properties of a biosurfactant synthesized by *Arthrobacter protophormiae* an Antarctic strain. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 13, 137-139, 1997.
14. Flasz, A., Rocha, C.A., Mosquera, B., Sajo, C., A comparative study of the toxicity of a synthetic surfactant and one produced by *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 55925. *Medical Science Research*, 26 (3), 181-185, 1998.
15. Edwards, K.R., Lepo, J.E., Lewis, M.A., Toxicity comparison of biosurfactants and synthetic surfactants used in oil spill remediation to two estuarine species. *Marine Pollution Bulletin*, 46 (10), 1309-1316, 2003.
16. Rosenberg, E., Ron, E.Z., High- and low-molecular-mass microbial surfactants. *Appl. Microbiol. Biotechnol*, 52, 154-162, 1999.
17. Calvo, C., Manzanera, M., Silva-Castro, G.A., Uad, I., González-López, J., Application of bioemulsifiers in soil oil bioremediation processes. *Future prospects. Sci. Total Environ*, 407, 3634-3640, 2009.
18. Sekhon, K.K., Khanna, S., and Cameotra, S.S., Biosurfactant Production and Potential Correlation with Esterase Activity, *Petroleum & Environmental Biotechnology*, 3:7, 2-10, 2012.
19. Jarvis, F.G., Johnson, M.J., A glycolipid produced by *Pseudomonas aeruginosa*. *J Am Chem Soc*, 71, 4124-4126, 1949.
20. Guerra-Santos, L.H., Kappeli, O., and Flechter, A., Dependence of *Pseudomonas aeruginosa* continuous culture biosurfactant production on nutritional and environmental factors. *Appl. Microbiol. Biotechnol*, 24, 443-448, 1986.
21. Lang, S., and Wagner, F., Structure and properties of biosurfactants, *In* N. Kosaric, W. L. Cairns, and N. C. C. Gray (eds), *Biosurfactants and biotechnology*. Marcel Dekker, Inc., 21-47, New York, 1987.
22. Parra, J.L., Guinea, J., Manresa, M.A., Robert, M., Mercade, M.E., Comelles, F., and Bosch, M.P., Chemical characterization and physicochemical behaviour of biosurfactants. *J. Am. Oil Chem. Soc*, 66, 141-145, 1989.
23. Li, Z., Y., Lang, S., Wagner, F., Witte, L., and Wray, V., Formation and identification of interfacial-active glycolipids from resting microbial cells of *Arthrobacter* sp. and potential use in tertiary oil recovery. *Appl. Environ. Microbiol*, 48, 610-617, 1984.
24. Rapp, P., Bock, H., Wray, V., and Wagner, F., Formation, isolation and characterization of trehalose dimycolates from *Rhodococcus erythropolis* grown on n-alkanes. *J. Gen. Microbiol*, 115, 491-503, 1979.
25. Cooper, D.G., and Paddock, D.A., Production of a biosurfactant from *Torulopsis bombicola*. *Appl. Environ. Microbiol*, 47, 173-176, 1984.
26. Yakimov, M.M., Timm is, K.N., Wray V., and Fredrickson, H.L., Characterization of a new lipopeptide surfactant produced by thermotolerant and halotolerant subsurface *Bacillus licheniformis* BAS50. *Applied and Environmental Microbiology*, 61, 1706-1713., 1995.
27. Horowitz, S., Gilbert, J.N., and Griffin, W.M., Isolation and characterization of a surfactant produced by *Bacillus licheniformis* 86. *J. Ind. Microbiol*, 6, 243-248, 1990.
27. Horowitz, S., and Griffin, W.M., Structural analysis of *Bacillus licheniformis* 86 surfactant. *J. Ind. Microbiol*, 7, 45-52, 1991.
28. Kappeli, O., and Finnerty, W.R., Partition of alkane by an extracellular vesicle derived from hexadecane-grown *Acinetobacter*. *J. Bacteriol.*, 140, 707-712, 1979.
29. Kretschmer, A., Bock, H., and Wagner, F., Chemical and physical characterization of interfacial-active lipids from *Rhodococcus erythropolis* grown on n-alkane. *Appl. Environ. Microbiol*, 44, 864-870, 1982.
30. Rosenberg, E., Zuckerberg, A., Rubinovitz, C., and Gutnick, D.L., Emulsifier *Arthrobacter* RAG-1: isolation and emulsifying properties. *Appl. Environ. Microbiol*, 37, 402-408, 1979.
31. Satpute, S.K., Bhuyan, S.S., Pardesi, K.R., Mujumdar, S.S., Dhakephalkar, P.K., Shete A.M., and Chopade, B.A., Molecular genetics of biosurfactant synthesis in microorganisms, *Biosurfactants*, Ramkrishna Sen, (eds), 14-41, Landes Bioscience and Springer Science+Business Media, 2010.
32. Rosenberg, E., Rubinovitz, C., Legmann, R., Ron, E.Z., Purification and chemical properties of *Acinetobacter calcoaceticus* A2 Biodispersan. *Appl. Environ. Microbiol*, 54, 323-326, 1988.
33. Navonvenezia, S., Zosim, Z., Gottlieb, A., Legmann, R., Carmeli, S., Ron, E.Z., and Rosenberg, E., Alasan, a new bioemulsifier from *Acinetobacter radioresistens*. *Appl. Environ. Microbiol*, 61, 3240-3244, 1995.
34. Cirigliano, M.C., Carman, G.M., Purification and characterization of liposan, a bioemulsifier from *Candida lipolytica*. *Appl. Environ. Microbiol*, 50, 846-850, 1984.
35. Cameron, D.R., Cooper, D.G., Neufeld, R.J., The mannoprotein of *accharomyces cerevisiae* is an effective bioemulsifier. *Appl. Environ. Microbiol*, 54, 1420-1425, 1988.
36. Kappeli, O., Walther, P., Mueller, M., and Fiechter, A., Structure of cell surface of the yeast *Candida tropicalis* and its relation to hydrocarbon transport. *Arch. Microbiol*, 138, 279-282, 1984.
37. Fautz, B., Lang, S., and Wagner, F., Formation of cellobiose lipids by growing and resting cells of *Ustilago maydis*. *Biotechnol. Lett*, 8, 757-762, 1986.
38. Kitamoto, D., Yanagishita, H., Shinbo, T., Nakane, T., Kamisawa, C., Nakahara, T., Surface active properties and antimicrobial activities of mannosylerythritol lipids as biosurfactants produced by *Candida antarctica*. *J Biotechnol*, 29, 91-6, 1993.
39. Desai, J.D., Microbial surfactants: evaluation, types and future applications. *J. Sci. Ind. Res*, 46, 440-449, 1987.
40. Rosenberg, E., Microbial surfactants. *Crit. Rev. Biotechnol*, 3, 109- 132, 1986.
41. Wilkinson, S.G., and Galbraith, L., Studies on lipopolysaccharides from *Pseudomonas aeruginosa*. *Eur. J. Biochem*, 52, 331-343, 1975.
42. Reis, R.S., Pacheco, G.J., Pereira, A.G., and Freire, D.M.G., Biosurfactants: production and applications, N. Kosaric, (eds), Marcel Dekker Inc., 31-61, New York, 1993.
43. Shete, A.M., Wadhawa, G., Banat, I.M., Chopade, B.A., Mapping of patents on bioemulsifier and biosurfactant: A review. *Journal of Scientific and Industrial Research*, 65 (2), 91-115, 2006.

44. Sanket, G.K., and Yagnik, B.N., Current trend and potential for microbial biosurfactants, *Asian J. Exp. Biol. Sci.*, 4 (1), 1 – 8, 2013.
45. Rodrigues, L., Banat, I.M., Teixeira, J., and Oliveira, R., Biosurfactants: potential applications in medicine. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 57, 609-618, 2006.
46. Besson, F., Peypoux, F., Michel, G., Delcambe, L., Characterization of iturin A in antibiotics from various strains of *Bacillus subtilis*. *J Antibiot*, 29, 1043–9, 1976.
47. Tanaka, Y., Takashi, T., Kazuhik, U., et al., Method of producing iturin A and antifungal agent for profound mycosis. *Biotechnol Adv*, 15, 234–5, 1997.
48. Kim, K., Jung, S.Y, Lee, D.K., Jung, J., Park, J.K., Kim, D.K., Lee, C., Suppression of inflammatory responses by surfactin, a selective .inhibitor of platelet cytosolic phospholipase A2. *Biochem Pharmacol*, 55, 975–85, 1998.
49. Isoda, H., Kitamoto, D., Shinmoto, H., Matsumura, M., Nakahara, T., Microbial extracellular glycolipid induction of differentiation and inhibition of protein kinase C activity of human promyelocytic leukaemia cell line HL60. *Biosci Biotechnol Biochem*, 61, 609–14, 1997.
50. Uchida, Y., Tsuchiya, R., Chino, M., et al., Extracellular accumulation of mono and di succinyl trehalose lipids by a strain of *Rodococcus erythropolis* grown on n-alkanes. *Agric Biol Chem*, 53, 757–63, 1989.
51. Mireles, J.R., Toguchi, A., Harshey, R.M., *Salmonella enterica* serovar Typhimurium swarming mutants with altered biofilm forming abilities: surfactin inhibits biofilm formation. *J. Bacteriol*, 183, 5848–5854, 2001.
52. Meylheuc, T., van Oss, C.J., Bellon-Fontaine, M.N., Adsorption of biosurfactant on solid surfaces and consequences regarding the bioadhesion of *Listeria monocytogenes* LO28. *J. Appl. Microbiol*, 91, 822–832, 2001.
53. Velraeds, M.M., van de Belt-Gritter, B., van der Mei, H.C., Reid, G., Busscher, H.J., Interference in initial adhesion of uropathogenic bacteria and yeasts to silicone rubber by a *Lactobacillus acidophilus* biosurfactant. *J. Med. Microbiol*, 47, 1081–1085, 1998.
54. Heinemann, C., van Hylckama, V.J.E., Janssen, D.B., Busscher, H.J., van der Mei, H.C., Reid, G., Purification and characterization of a surface-binding protein from *Lactobacillus fermentum* RC-14 that inhibits adhesion of *Enterococcus faecalis* 1131. *FEMS Microbiol. Lett*, 190, 177–180, 2000.
55. Boris, S., and Barbes, C., Role played by *Lactobacilli* in controlling the population of vaginal pathogens. *Microbes Infect*, 2, 543–546, 2000.
56. Reid, G., Probiotic agents to protect the urogenital tract against infection. *Am. J. Clin. Nutr*, 73, 437S–443S, 2001.
57. Banat, I., Potential commercial applications of microbial surfactants. *Applied Microbiology Biotechnology*, 53, 495-508, 2000.
58. Shepherd, R., Rockey, J., Sutherland, I.W., Roller, S., Novel bioemulsifiers from microorganisms for use in foods. *Journal of Biotechnology*, 40, 207-217, 1995.
59. Nitschkea, M., and Costa, S.G.V.A.O., Biosurfactants in food industry, *Trends in Food Science & Technology*, 18, 252-259, 2007.
60. Shoeb, E., Akhlaq, F., Badar, U., Akhter, J., Imtiaz, S., Classification and industrial applications of biosurfactants, *Natural and Applied Sciences*, 4 (3), 243-252, 2013.
61. Kachholz, T., Schlingmann, M., Possible food and agricultural applications of microbial surfactants: an assessment. In N. Kosaric, W. L. Carns, & N. C. C. Gray (eds), *Biosurfactants and biotechnology*, Marcel Dekker,
62. Kosaric, N. 2001. Biosurfactants and their application for soil bioremediation. *Food Technology and Biotechnology*, 39 (4), 295-304.
63. Van Haesendonck, I.P.H., Vanzeveren, E.C.A., Rhamnolipids in bakery products. W.O. 2004/040984, International application patent (PCT), 2004.
64. Iyer, A., Mody, K., Jha, B., Emulsifying properties of a marine bacterial exopolysaccharide. *Enzyme and Microbial Technology*, 38, 220-222, 2006.
65. Hood, S.K., Zottola, E.A., Biofilms in food processing. *Food Control*, 6 (1), 9-18, 1995.
66. Mnif, I., Ghribi, D., Lipopeptides Biosurfactants: Mean Classes and New Insights for Industrial, Biomedical, and Environmental Applications. *PeptideScience*, Volume 104 / Number 3, 129-147, 2015.