

SOFÍA ALEJANDRA LÓPEZ-CHÁVEZ

**Análise dos efeitos de diferentes limitações nutricionais na
produção de ramnolipídios por *Pseudomonas aeruginosa***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Interunidades em Biotecnologia, USP/Butantã/IPT da Universidade de São Paulo para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

São Paulo

2020

RESUMO

LÓPEZ-CHÁVEZ, S. A. **Análise dos efeitos de diferentes limitações nutricionais na produção de ramnolipídios por *Pseudomonas aeruginosa***. 2019. 178 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

O crescimento bacteriano pode prosseguir mesmo na ausência de determinados nutrientes, entretanto, nessa condição a composição da célula com relação ao nutriente limitante varia ao longo do cultivo e pode resultar em alterações no metabolismo celular. Neste trabalho, foram desenhados meios de cultura com diferentes concentrações de Mg^{2+} , Fe^{3+} e Ca^{2+} com o objetivo de aprofundar a compreensão do efeito de limitações nutricionais na produção de ramnolipídios (RHL). Os RHL são biossurfactantes com grande interesse industrial pelas propriedades tensoativas e emulsificantes que possuem. Foram realizados cultivos em agitador rotativo com diferentes concentrações limitantes de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, citrato férrico amoniacal e $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, separadamente, para identificar os efeitos que cada limitação tem na formação de biomassa, produção e composição de polihidroxialcanoatos (PHAs) e RHLs. Menores concentrações de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (25 e 12,5 mg/L) e $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ (0,3 mg/L) aumentaram a produção de RHL. No entanto, cultivos limitados em Fe^{3+} não apresentaram aumento de RHL. Formularam-se ainda novos meios de cultura combinando os melhores resultados do experimento anterior, com o objetivo de avaliar os efeitos sinérgicos da limitação nos diferentes nutrientes. O meio de cultura limitado em Mg^{2+} e Ca^{2+} foi o que permitiu a maior produção de RHL. Condições de cultivo em biorreator para produção de RHL foram aprimoradas, aplicando a aeração apenas pela parte superior do tanque, variando na vazão de ar e diminuindo o uso de antiespumante. Desta forma, foi possível atingir uma velocidade máxima de produção de RHL (μ_{RHL}) 56,69 mg/g.h, produtividade global 154,97 mg/L.h e fator de conversão ($Y_{P/S}$) 226,6 mg/g. Adicionalmente, avaliou-se em biorreator o impacto de limitações nutricionais (Mg^{2+} e Ca^{2+}) do meio de cultivo no crescimento celular e na produção de PHA e RHL. No entanto, nesses cultivos observou-se, além das limitações planejadas, limitação em SO_4^{2-} que influenciou na produção de RHL.

Palavras-chave: Biossurfactantes; Ramnolipídios; *Pseudomonas aeruginosa*; metabolismo microbiano; limitação de nutrientes.

ABSTRACT

LÓPEZ-CHÁVEZ, S. A. **Analysis of the effects of different nutritional limitations on the production of rhamnolipids by *Pseudomonas aeruginosa***. 2019. 178 p. Master thesis (Biotechnology) – Instituto de Ciências Biomedicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

Bacterial growth may continue even in the absence of certain nutrients, however, in this condition the cell composition in relation to the limiting nutrient varies throughout the culture period and can result in changes of cell metabolism. In this study, culture media with different concentrations of Mg^{2+} , Fe^{3+} and Ca^{2+} were designed to expand the understanding of nutritional limitation effect on the production of rhamnolipids (RHL). RHL are biosurfactants with industrial interest because of their surface active and emulsifying properties. Cultures were performed in shake flasks with different limiting concentrations of $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, ammonia ferric citrate and $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, separately, to identify the effects of each nutritional limitation on biomass formation, production and composition of poly(3-hydroxyalkanoates) (PHA) and RHL. Lower concentrations of $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (25 and 12.5 mg/L) and $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ (0.3 mg/L) increased RHL production. However, Fe^{3+} limited cultures showed no increase on RHL production. New cultures media were formulated combining the best results in the previous experiment to evaluate the synergistic effects of the different nutrients limitation. The culture medium limited in Mg^{2+} and Ca^{2+} allowed the higher RHL production. The conditions of bioreactor cultures for RHL production were improved, applying the aeration only by the upper part of the bioreactor, changing the air flow and reducing the use of antifoam. Thus, it was possible to reach a maximum RHL production rate (μ_{RHL}) 56.69 mg/g.h, global productivity 154.97 mg/L.h and yield ($Y_{P/s}$) 226.6 mg/g. Additionally, the impact of nutritional limitations (Mg^{2+} and Ca^{2+}) on cell growth, PHA and RHL production was evaluated in bioreactor. However, in these cultures, besides the planned limitations on culture media, a SO_4^{2-} limitation also influenced the production of RHL.

Keywords: Biosurfactants; Rhamnolipids; *Pseudomonas aeruginosa*; microbial metabolism; nutrient limitation.

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

Os biossurfactantes são compostos anfifílicos produzidos por microrganismos. Possuem uma porção hidrofílica e uma hidrofóbica, que provocam a redução da tensão superficial nas interfaces líquido/ar ou líquido/líquido. Entre os diferentes tipos de biossurfactantes, os ramnolipídios (RHL, da sigla em inglês de *rhamnolipid*) pertencem ao grupo dos glicolipídios, produzidos, principalmente, pela bactéria *Pseudomonas aeruginosa* (VIJAYAKUMAR; SARAVANAN, 2015).

Nas últimas décadas, os estudos desenvolvidos com RHLs têm revelado diversas aplicações para estes compostos. Os RHLs têm propriedades emulsificantes para a extração de petróleo em solos contaminados e facilitar a biorremediação (COSTA et al., 2010), têm capacidade antimicrobiana, além de possuir baixa toxicidade para aplicações farmacêuticas e terapêuticas (MAGALHÃES; NITSCHKE, 2013). A indústria da beleza e saúde tem interesse nos RHLs para tratamentos dérmicos (PILJAC; PILJAC, 2007) e criação de cosméticos. Na produção de detergentes e produtos de limpeza, os RHLs são bem valorizados, assim como no setor agrícola (VATSA et al., 2010; SACHDEV; CAMEOTRA, 2013).

O crescente interesse por produtos “verdes”, ambientalmente amigáveis e produzidos de fontes renováveis tem expandindo o mercado dos RHLs. Entretanto, o maior desafio na comercialização destes e outros biossurfactantes é o custo de produção. Diferentes estudos relacionados à produção de ramnolipídios têm sido desenvolvidos (RAHMAN et al., 2002; STRELEC, 2006; PEIXOTO DE MELO, 2008; ALMEIDA, 2011; GONG; PENG; WANG, 2015; FUNSTON et al., 2016; GUDIÑA et al., 2016), mas seu amplo uso ainda requer importantes avanços para reduzir custos. Na produção de biossurfactantes, a extração e purificação representam entre 70% e 80% de todos os custos de produção (RANDHAWA; RAHMAN, 2014), para aplicações que requerem maior grau de pureza. A instabilidade do preço de produção, devido à diferença da demanda e oferta, são restrições chaves para o desenvolvimento do mercado (SEN, 2010).

Portanto, para chegar a serem concorrentes dos surfactantes convencionais, é essencial considerar alguns aspectos principais, entre eles estão: o uso de linhagens aptas, ou seja, estirpes recombinantes ou não, não patogênicas e tolerantes às condições do bioprocessamento (HONNA, 2013; TAVARES et al., 2013; ELSHIKH et al., 2017). Outro aspecto importante é o aproveitamento de matéria-prima barata, como mecanismo para isto pode-se reaproveitar subprodutos de outros processos, como o bagaço de cana, o glicerol, o óleo de cozinha, entre

outros (SADOUK; HACENE; TAZEROUTI, 2008; BRUMANO; SOLER; DA SILVA, 2016). E finalmente, o desenvolvimento de melhores e mais eficientes tecnologias de produção e a otimização do bioprocessamento ajustando as condições do cultivo (GUERRA-SANTOS; KÄPPELI; FIECHTER, 1984, 1986; CHAYABUTRA; WU; JU, 2001). A sinergia desses fatores permitirá que a produção de RHL seja interessante do ponto de vista econômico. Deste modo, o presente trabalho aprofundará nos estudos para melhoramento do bioprocessamento para produção de RHL.

A diminuição da taxa de crescimento celular depende da produção de compostos nocivos do próprio metabolismo bacteriano e da disponibilidade restrita de alguns nutrientes, como a fonte de carbono, a fonte de nitrogênio, ou algum macro- ou micronutriente limitante (Mg^{2+} , Fe^{3+} , Ca^{2+} , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} , K^+). A restrição de nutrientes levará à desaceleração da fase de crescimento, permitindo a adaptação das células à diminuição da disponibilidade extracelular do nutriente e a utilização das reservas intracelulares do nutriente esgotado (MASON; EGLI, 1993). Nestas condições, células de diferentes composições com relação a esses nutrientes limitados podem ser produzidas e provocar modificações estruturais ou funcionais, por sua vez, causando diferentes capacidades metabólicas.

A produção de RHL acontece, geralmente, sob o esgotamento da fonte de nitrogênio ou de algum outro nutriente necessário para o crescimento celular (GUERRA-SANTOS; KÄPPELI; FIECHTER, 1984, 1986; CHAYABUTRA; WU; JU, 2001; BAZIRE et al., 2005; GLICK et al., 2010; SCHMIDBERGER et al., 2014; KOSARIC; VARDAR-SUKAN, 2015). Vários estudos têm buscado aperfeiçoar a produção de biossurfactantes alterando variáveis do processo (GUERRA-SANTOS; KÄPPELI; FIECHTER, 1984, 1986; CHAYABUTRA; WU; JU, 2001; CHEN et al., 2007; PEIXOTO DE MELO, 2008; ALMEIDA, 2011; SHA; MENG; JIANG, 2012; HONNA, 2013; GONG; PENG; WANG, 2015).

Uma medida importante é selecionar e otimizar as condições de cultura e os componentes críticos do meio de cultura para aumentar a produção de RHL. Por exemplo, considerar a natureza das fontes de carbono e nitrogênio ou as concentrações de PO_4^{3-} , SO_4^{2-} , Mg^{2+} , K^+ , Ca^{2+} e Fe^{2+} no meio de cultura; da mesma forma, melhorar as condições operacionais do cultivo como pH, temperatura, aeração e agitação que influenciam a produção e rendimento do RHL em *P. aeruginosa* (GUERRA-SANTOS; KÄPPELI; FIECHTER, 1986; CHAYABUTRA; WU; JU, 2001; CHEN; WEI; CHANG, 2007; KASKATEPE; YILDIZ, 2016).

Este trabalho teve como principal objetivo aprofundar na avaliação do efeito de diferentes limitações nutricionais na produção de RHL. Diferentes concentrações de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, citrato férrico amoniacal e $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ foram avaliadas no meio de cultura em

cultivos em agitador rotativo e em biorreator para formação de biomassa, polihidroxicanoatos (PHAs) e RHLs. Além disso, modificações nas condições de cultivo em biorreator foram avaliadas e melhoradas para aumentar o rendimento do bioprocesso de produção de RHL.

6. CONCLUSÕES

Neste estudo foi possível obter as seguintes conclusões:

- O Mg^{2+} é um micronutriente essencial para que vários dos processos fisiológicos e metabólicos microbianos aconteçam com eficácia, como formação de biomassa e biossíntese de PHA e de RHL (3HAA e ramnose). O fornecimento de baixas concentrações de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ no meio de cultura foram ideais para aumentar a produção de RHL, em particular os 3HAAs.
- O enxofre (SO_4^{2-}) é um macronutriente essencial para as bactérias. Em condições de limitação de SO_4^{2-} o crescimento celular, assim como a produção de metabólitos secundários como PHA e RHL (3HAA e ramnose) vêm-se comprometidos. O fornecimento de enxofre em adequadas concentrações é necessário para a formação de biomassa, o qual interferiria no desempenho da biossíntese de PHA e RHL (3HAA e ramnose).
- Os íons de Ca^{2+} não são essenciais para a formação de biomassa, nem para biossíntese de PHA nem de RHL (3HAA e ramnose). Porém fornecimento de baixas concentrações de $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ no meio de cultura foram ideais para aumentar a produção de RHL, em particular os 3HAAs.
- O Fe^{3+} não é um nutriente essencial nem para crescimento celular de *P. aeruginosa* LFM634, nem para a biossíntese de PHA nem de RHL (3HAA e ramnose). Não obstante, é necessário o fornecimento de concentrações adequadas de Fe^{3+} , já que as proteínas dependentes de ferro têm uma função importante no crescimento celular e nos mecanismos de defesa contra estresse oxidativo.
- Combinando limitações nutricionais de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ e $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ no meio de cultura foi possível aumentar a produção de 3HAA e ramnose do RHL. O fornecimento de citrato férrico amoniacal torna-se de menor relevância para intensificar essa produção.
- Na biossíntese de ramnose, nenhuma das limitações nutricionais avaliadas parece interferir, porém são necessárias concentrações apropriadas de Mg^{2+} e de SO_4^{2-} para a biossíntese de ramnose não apresentar nenhuma limitação por esgotamento desses nutrientes.
- *P. aeruginosa* LFM634 possui a maquinaria genética para responder às condições de estresse na limitação de oxigênio. Em resposta à limitação utiliza diferentes mecanismos

microbianos como desnitrificação de NO_3^- , fermentação de piruvato e produção de piocianina.

- Apesar da aeração superficial ter provocado maior limitação de oxigênio durante os cultivos em biorreator, essa condição de cultivo foi mais apropriada para um maior rendimento da produção de RHL, do que com aeração por borbulhamento que leva à formação intensa de espuma.
- O melhoramento das condições de cultivo com a aeração pela parte superior do biorreator, a variação da vazão de aeração durante o cultivo e a adição mínima de antiespumante permitiram obter resultados importantes no cultivo BREZ03 com μ_{RHL} 56,69 mg/g.h, produtividade global 154,97 mg/L.h e $Y_{\text{RHL/Gli}}$ 226,6 mg/g.
- As variações nas condições de cultivo em biorreator (aeração, vazão, antiespumante) não influenciaram a composição dos 3HAAs. Porém, as variações no meio de cultura com limitações em Mg^{2+} , Ca^{2+} e SO_4^{2-} levaram a mais alterações na composição dos 3HAAs do que a variação das condições de cultivo ou o tipo da fonte de nitrogênio.
- Mudanças das condições de cultivo em biorreator (tipo de aeração e vazão) assim como mudanças na composição do meio de cultura (limitações nutricionais Mg^{2+} , Ca^{2+} e SO_4^{2-} , e fonte de nitrogênio) levam a modificações na composição de PHA.
- Não foi possível estabelecer verdadeiros períodos em estado pseudo-estacionário adequados para análise de fluxos metabólicos em cultivos de produção de RHL, limitados em oxigênio. A produção e reconsumo de ácidos orgânicos durante o cultivo torna o metabolismo muito complexo.

REFERÊNCIAS

- AAGOT, N. et al. An altered *Pseudomonas* diversity is recovered from soil by using nutrient-poor *Pseudomonas*-selective soil extract media. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 67, p. 5233–5239, 2001.
- ABALOS, A. et al. Utilization of response surface methodology to optimize the culture media for the production of rhamnolipids by *Pseudomonas aeruginosa* AT10. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 77, n. 7, p. 777–784, 2002.
- ABDEL-MAWGOUD, A. M.; LÉPINE, F.; DÉZIEL, E. Rhamnolipids: diversity of structures, microbial origins and roles. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 86, p. 1323–1336, 2010.
- ALGAE TECHNOLOGIES. **Rhamnolipid Products**. Disponível em: <<https://www.agaetech.com/new-product-catalog-2/>>. Acesso em: 13 dez. 2017.
- ALI KHAN, A. H. et al. Role of nutrients in bacterial biosurfactant production and effect of biosurfactant production on petroleum hydrocarbon biodegradation. **Ecological Engineering**, v. 104, p. 158–164, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoleng.2017.04.023>>.
- ALMEIDA, K. **Produção de rhamnolipídios por isolados de *Pseudomonas*: avaliação do efeito das fontes de carbono e nitrogênio na composição do rhamnolípido**. 2011. Universidade de São Paulo, 2011.
- ALMEIDA, K. L. **Expressão heteróloga de genes *rhlA* envolvidos na síntese de 3-(3-hidroxi-*alcanoil*)-*alcanoato*, o precursor de rhamnolipídeos**. 2018. Universidade de São Paulo, 2018.
- ARAI, H. Regulation and function of versatile aerobic and anaerobic respiratory metabolism in *Pseudomonas aeruginosa*. **Frontiers in Microbiology**, v. 2, n. 103, p. 1–13, 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21833336>><<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC3153056>>.
- ASBELL, M. A.; EAGON, R. G. Role of multivalent cations in the organization, structure, and assembly of the cell wall of *Pseudomonas aeruginosa*. **Journal of Bacteriology**, v. 92, n. 2, p. 380–387, 1966. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=276252&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>><<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16562124>>.
- BANIN, E.; VASIL, M. L.; GREENBERG, P. Iron and *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 102, n. 31, p. 11076–11081, 2011.
- BARBOSA, H. R.; GOMEZ, J. G. C.; TORRES, B. B. **Microbiologia básica**. 2. ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 2018.

- BAZIRE, A. et al. Osmotic stress and phosphate limitation alter production of cell-to-cell signal molecules and rhamnolipid biosurfactant by *Pseudomonas aeruginosa*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 253, n. 1, p. 125–131, 2005.
- BEUKER, J. et al. Integrated foam fractionation for heterologous rhamnolipid production with recombinant *Pseudomonas putida* in a bioreactor. **AMB Express**, v. 6, n. 1, p. 1–10, 2016a.
- BEUKER, J. et al. High titer heterologous rhamnolipid production. **AMB Express**, v. 6, n. 1, p. 1–7, 2016b. Disponível em: <<http://amb-express.springeropen.com/articles/10.1186/s13568-016-0298-5>>.
- BRANDL, H. et al. Plastics from bacteria and for bacteria: Poly(β -hydroxyalkanoates) as natural, biocompatible and biodegradable polyesters. **Advances in Biochemical Engineering / Biotechnology**, v. 41, p. 77–93, 1990.
- BRAR, S. K.; DHILLON, G. S.; SOCCOL, C. R. (ed.). **Biotransformation of waste biomass into high value biochemicals**. New York: Springer Science+Business Media, 2014.
- BRUMANO, L. P.; SOLER, M. F.; DA SILVA, S. Recent advances in sustainable production and application of biosurfactants in Brazil and Latin America. **Industrial Biotechnology**, v. 12, n. 1, p. 1–9, 2016.
- CAMPOS, J. M. et al. Microbial biosurfactants as additives for food industries. **Biotechnology Progress**, v. 29, n. 5, p. 1097–1108, 2013.
- CARLSON, C. A.; FERGUSON, L. P.; INGRAHAM, J. L. Properties of dissimilatory nitrate reductase purified from the denitrifier *Pseudomonas aeruginosa*. **Journal of Bacteriology**, v. 151, n. 1, p. 162–171, 1982.
- CASTILLO, T.; DUQUE, E.; RAMOS, J. L. A set of activators and repressors control peripheral glucose pathways in *Pseudomonas putida* to yield a common central intermediate. **Journal of Bacteriology**, v. 190, n. 7, p. 2331–2339, 2008.
- CHA, M. et al. Heterologous production of *Pseudomonas aeruginosa* EMS1 biosurfactant in *Pseudomonas putida*. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 7, p. 2192–2199, 2008.
- CHAYABUTRA, C.; WU, J.; JU, L.-K. Rhamnolipid production by *Pseudomonas aeruginosa* under denitrification: Effects of limiting nutrients and carbon substrates. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 72, n. 1, p. 25–33, 2001.
- CHEN, F.; XIA, Q.; JU, L.-K. Competition between oxygen and nitrate respirations in continuous culture of *Pseudomonas aeruginosa* performing aerobic denitrification. **Biotechnology and bioengineering**, v. 93, n. 6, p. 1069–1078, 2006.
- CHEN, S. Y. et al. Improved production of biosurfactant with newly isolated *Pseudomonas aeruginosa* S2. **Biotechnology Progress**, v. 23, n. 3, p. 661–666, 2007.
- CHEN, S. Y.; WEI, Y. H.; CHANG, J. S. Repeated pH-stat fed-batch fermentation for rhamnolipid production with indigenous *Pseudomonas aeruginosa* S2. **Applied Microbiology**

and Biotechnology, v. 76, n. 1, p. 67–74, 2007.

CHOI, M. H. et al. Metabolic relationship between polyhydroxyalkanoic acid and rhamnolipid synthesis in *Pseudomonas aeruginosa*: Comparative ¹³C NMR analysis of the products in wild-type and mutants. **Journal of Biotechnology**, v. 151, n. 1, p. 30–42, 2011.

ČINÁTL, J. Inorganic-organic multimolecular complexes of salt solutions, culture media and biological fluids and their possible significance for the origin of life. **Journal of Theoretical Biology**, v. 23, p. 1–10, 1969.

CORPE, W. A. Factors influencing growth and polysaccharide formation by strains of *Chromobacterium violaceum*. **Journal of Bacteriology**, v. 88, n. 5, p. 1433–1441, 1964.

COSTA, S. G. V. A. et al. Cassava wastewater as a substrate for the simultaneous production of rhamnolipids and polyhydroxyalkanoates by *Pseudomonas aeruginosa*. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 36, p. 1063–1072, 2009.

COSTA, S. G. V. A. O. et al. Structure, properties and applications of rhamnolipids produced by *Pseudomonas aeruginosa* L2-1 from cassava wastewater. **Process Biochemistry**, v. 45, n. 9, p. 1511–1516, 2010.

DALTIN, D. **Tensoativos: química, propriedades e aplicações**. São Paulo: Edgard Blücher Ltda., 2011.

DAVIES, D. G. Regulation of Matrix Polymer in Biofilm Formation and Dispersion. In: WINGENDER, J.; NEU, T. R.; FLEMMING, H.-C. (Ed.). **Microbial Extracellular Polymeric Substances**. 1. ed. Berlin: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1999. p. 258.

DE SANTANA FILHO, A. P. **Ramnolipídeos produzidos por *Pseudomonas aeruginosa* UFPEDA 614: Estudos de produção e de variação da composição de homólogos**. 2009. Universidade Federal do Paraná, 2009.

DEDYUKHINA, E. G.; EROSHIN, V. K. Essential metal ions in the control of microbial metabolism. **Process Biochemistry**, v. 26, n. 1, p. 31–37, 1991.

DESAI, J. D.; BANAT, I. M. Microbial production of surfactants and their commercial potential. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 61, p. 47–64, 1997.

DIETRICH, L. E. P. et al. The phenazine pyocyanin is a terminal signalling factor in the quorum sensing network of *Pseudomonas aeruginosa*. **Molecular Microbiology**, v. 61, n. 5, p. 1308–1321, 2006.

DOMINGUEZ, D. C. Calcium signalling in bacteria. **Molecular Microbiology**, v. 54, n. 2, p. 291–297, 2004.

EAGON, R. G.; SIMMONS, G. P.; CARSON, K. J. Evidence for the presence of ash and divalent metals in the cell wall of *Pseudomonas aeruginosa*. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 11, p. 1041–1042, 1965.

EDWARDS, J. R.; HAYASHI, J. A. Structure of a rhamnolipid from *Pseudomonas aeruginosa*.

Archives of Biochemistry and Biophysics, v. 111, n. 2, p. 415–421, 1965.

EGLI, T. Nutrition, microbial. In: SCHAECHTER, M. (Ed.). **Encyclopedia of Microbiology**. Oxford, United Kingdom: Elsevier Academic Press, 2009. p. 788–804.

EGLI, T. Microbial growth and physiology: a call for better craftsmanship. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, n. 287, p. 1–12, 2015.

EL-HOUSSEINY, G. S. et al. Optimization of rhamnolipid production by *P. aeruginosa* isolate P6. **Journal of Surfactants and Detergents**, v. 19, n. 5, p. 943–955, 2016.

ELSHIKH, M. et al. Rhamnolipids from non-pathogenic *Burkholderia thailandensis* E264: Physicochemical characterization, antimicrobial and antibiofilm efficacy against oral hygiene related pathogens. **New Biotechnology**, v. 36, p. 26–36, 2017. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1871678416323020?np=y>>.

ERAQI, W. A. et al. Utilization of crude glycerol as a substrate for the production of rhamnolipid by *Pseudomonas aeruginosa*. **Biotechnology Research International**, v. 2016, p. 1–9, 2016. Disponível em: <<http://www.hindawi.com/journals/btri/2016/3464509/>>.

ESCHBACH, M. et al. Long-term anaerobic survival of the opportunistic pathogen *Pseudomonas aeruginosa* via pyruvate fermentation. **Journal of bacteriology**, v. 186, n. 14, p. 4596–4604, 2004. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15231792>><http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC438635>>.

FAIVRE, V.; ROSILIO, V. Interest of glycolipids in drug delivery: from physicochemical properties to drug targeting. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 7, n. 9, p. 1031–1048, 2010. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1517/17425247.2010.511172>>.

FLATMAN, P. W. Magnesium transport across cell membranes. **The Journal of Membrane Biology**, v. 80, n. 1, p. 1–14, 1984.

FRACTOVIA. **Biosurfactants Market – Global Industry Analysis Report, Share, Size, Growth, Price Trends and Forecast, 2016 – 2023**. Disponível em: <<https://www.fractovia.org/news/industry-research-report/biosurfactants-market>>. Acesso em: 15 dez. 2017.

FRIEDEN, E. New perspectives on the essential trace elements. **Journal of Chemical Education**, v. 62, n. 11, p. 917–923, 1985.

FRIEDHEIM, E. A. H. Pyocyanin, an accessory respiratory pigment. **Journal of Experimental Medicine**, v. 54, p. 207–221, 1931.

FRIMMERSDORF, E. et al. How *Pseudomonas aeruginosa* adapts to various environments: A metabolomic approach. **Environmental Microbiology**, v. 12, n. 6, p. 1734–1747, 2010.

FUNSTON, S. J. et al. Characterising rhamnolipid production in *Burkholderia thailandensis* E264, a non-pathogenic producer. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 100, n. 18, p.

7945–7956, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00253-016-7564-y>>.

GAUTAM, K. K.; TYAGI, V. K. Microbial surfactants: A review. **Journal of Oleo Science**, v. 55, n. 4, p. 155–166, 2006.

GLICK, R. et al. Increase in rhamnolipid synthesis under iron-limiting conditions influences surface motility and biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa*. **Journal of Bacteriology**, v. 192, n. 12, p. 2973–2980, 2010.

GONG, Z.; PENG, Y.; WANG, Q. Rhamnolipid production, characterization and fermentation scale-up by *Pseudomonas aeruginosa* with plant oils. **Biotechnology Letters**, v. 37, n. 10, p. 2033–2038, 2015.

GRAND VIEW RESEARCH. **Global biosurfactants market analysis by product (rhamnolipids, sophorolipids, MES, APG, sorbitan esters, sucrose esters) and segment forecast to 2020** Grand View Research. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<http://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/biosurfactants-industry>>.

GROTHER, E.; MOO-YOUNG, M.; CHISTI, Y. Fermentation optimization for the production of poly(β -hydroxybutyric acid) microbial thermoplastic. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 25, n. 1–2, p. 132–141, 1999.

GUDIÑA, E. J. et al. Valorization of agro-industrial wastes towards the production of rhamnolipids. **Bioresource Technology**, v. 212, p. 144–150, 2016.

GUERRA-SANTOS, L. H.; KÄPPELI, O.; FIECHTER, A. *Pseudomonas aeruginosa* biosurfactant production in continuous culture with glucose as carbon source. **Applied and environmental microbiology**, v. 48, n. 2, p. 301–5, 1984. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6435520><http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC241507>>.

GUERRA-SANTOS, L. H.; KÄPPELI, O.; FIECHTER, A. Dependence of *Pseudomonas aeruginosa* continuous culture biosurfactant production on nutritional and environmental factors. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 24, n. 6, p. 443–448, 1986.

HANSEN, J. **Produção de ramnolipídeos por linhagem recombinante utilizando resíduos agroindustriais como fonte alternativa de carbono**. 2016. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

HARDER, W.; DIJKHUIZEN, L. Physiological responses to nutrient limitation. **Annual Review of Microbiology**, v. 37, p. 1–23, 1983.

HARTEL, R. W. (ed.). **Biosurfactants in food**. Switzerland: Springer, 2016.

HAUSER, G.; KARNOVSKY, M. L. Studies of the production of glycolipide by *Pseudomonas aeruginosa*. **Journal of Bacteriology**, v. 68, n. 6, p. 645–654, 1954.

HISATSUKA, K. ichi et al. Formation of Rhamnolipid by *Pseudomonas Aeruginosa* and its Function in Hydrocarbon Fermentation. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 35, n. 5,

p. 686–692, 1971.

HONNA, C. Y. **Obtenção e análise de mutantes de *Pseudomonas aeruginosa* afetados na biossíntese de rhamnolipídeos**. 2013. Universidade de Sao Paulo, 2013. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/42/42132/tde-26062014-112650/>>.

HORI, K.; MARSUDI, S.; UNNO, H. Simultaneous production of polyhydroxyalkanoates and rhamnolipids by *Pseudomonas aeruginosa*. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 78, n. 6, p. 699–707, 2002.

HUMMERJOHANN, J. et al. Regulation of the sulfate starvation response in *Pseudomonas aeruginosa*: Role of cysteine biosynthetic intermediates. **Microbiology**, v. 144, n. 5, p. 1375–1386, 1998.

IRFAN-MAQSOOD, M.; SEDDIQ-SHAMS, M. Rhamnolipids: Well-characterized glycolipids with potential broad. Applicability as biosurfactants. **Industrial Biotechnology**, v. 10, n. 4, p. 285–291, 2014. Disponível em: <<http://online.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/ind.2014.0003>>.

IRFAN MAQSOOD, M. et al. Effects of Iron Salts on Rhamnolipid Biosurfactant Production. **Biologia (Pakistan)**, v. 57, n. 2, p. 121–132, 2011.

ITOH, S. et al. Rhamnolipids produced by *Pseudomonas aeruginosa* grown on n-paraffin. **The Journal of Antibiotics**, v. 24, p. 855–859, 1971.

JARVIS, G. F.; JOHNSON, M. J. A Glycolipid Produced by *Pseudomonas aeruginosa*. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 71, p. 4124–4126, 1949.

JOHNSON, K.; PERRY, M. Improved techniques for the preparation of bacterial lipopolysaccharides. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 22, p. 29–34, 1976.

KAHLON, R. S. (ed.). **Pseudomonas: Molecular and applied biology**. Switzerland: Springer, 2016.

KANEKAR, P. P. et al. Exopolysaccharides of halophilic microorganism: an overview. In: THANGADURAI, D.; SANGEETHA, J. (Ed.). **Industrial biotechnology - Sustainable production and bioresource utilization**. Oakville: Apple Academic Press, Inc., 2017. p. 1–32.

KASKATEPE, B.; YILDIZ, S. Rhamnolipid biosurfactants produced by *Pseudomonas* Species. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 59, n. December, p. 1–16, 2016.

KENNEDY, E. P. Magnesium Transport in *Escherichia coli*. **Journal of Biological Chemistry**, v. 246, n. 9, p. 3042–3049, 1971.

KERTESZ, M. a; LEISINGER, T.; COOK, A. M. Proteins induced by sulfate limitation. **Journal of Bacteriology**, v. 175, n. 4, p. 1187–1190, 1993.

KILL, K. et al. (ed.). *Pseudomonas*: model organism, pathogen, cell factory. In: **Comparative Genomics of Pseudomonas**. New Zealand: Wiley-VCH, 2008. p. 1–24.

KIM, E. J.; SABRA, W.; ZENG, A. P. Iron deficiency leads to inhibition of oxygen transfer and enhanced formation of virulence factors in cultures of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. **Microbiology**, v. 149, n. 9, p. 2627–2634, 2003.

KLEIN, D. J.; MOORE, P. B.; STEITZ, T. A. The contribution of metal ions to the structural stability of the large ribosomal subunit. **Rna**, v. 10, n. 9, p. 1366–1379, 2004.

KOSARIC, N.; VARDAR-SUKAN, F. (ed.). **BIOSURFACTANTS: Production and utilization—Processes, technologies, and economics**. Boca Raton: CRC Press, 2015. v. 159

LA ROSA, R. et al. Influence of the Crc regulator on the hierarchical use of carbon sources from a complete medium in *Pseudomonas*. **Environmental Microbiology**, v. 18, n. 3, p. 807–818, 2016.

LA ROSA, R.; JOHANSEN, H. K.; MOLINA, S. Convergent metabolic specialization through distinct evolutionary paths in *Pseudomonas aeruginosa*. **mBio**, v. 9, n. 2, p. 1–15, 2018.

LAN, G. et al. Rhamnolipid production from waste cooking oil using *Pseudomonas* SWP-4. **Biochemical Engineering Journal**, v. 101, p. 44–54, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bej.2015.05.001>>.

LEE, B. S.; KIM, E. K. Lipopeptide production from *Bacillus* sp. GB16 using a novel oxygenation method. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 35, n. 6–7, p. 639–647, 2004.

LIGHT, P. A. Influence of environment on mitochondrial function in yeast. **Journal of Applied Chemistry and Biotechnology**, v. 22, p. 509–526, 1972.

LINHARDT, R. J.; BAKHIT, R.; DANIELS, L. Microbially produced rhamnolipid as a source of rhamnose. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 33, p. 365–368, 1989. Disponível em: <<http://www-heparin.rpi.edu/main/files/papers/5368d28037a900.60715162.pdf>>.

LURIA, S. E. The bacterial protoplasm: composition and organisation. In: GUNSALUS, I. C.; STANIER, R. Y. (Ed.). **The bacteria**. New York: Academic Press, Inc., 1960. p. 1–34.

LUSK, J. E.; WILLIAMS, R. J. P.; KENNEDY, E. P. Magnesium and the growth of *Escherichia coli*. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 243, n. 10, p. 2618–2624, 1968.

MAGALHÃES, L.; NITSCHKE, M. Antimicrobial activity of rhamnolipids against *Listeria monocytogenes* and their synergistic interaction with nisin. **Food Control**, v. 29, n. 1, p. 138–142, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.06.009>>.

MAIER, R. M.; SOBERÓN-CHÁVEZ, G. *Pseudomonas aeruginosa* rhamnolipids: biosynthesis and potential applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 54, p. 625–633, 2000.

MASON, C. A.; EGLI, T. Dynamics of Microbial Growth in the Decelerating and Stationary Phase of Batch Culture. In: KJELLEBERG, S. (Ed.). **Bacterial starvation**. New York: Springer Science+Business Media, LLC, 1993. p. 288.

MATA-SANDOVAL, J. C.; KARNS, J.; TORRENTS, A. High-performance liquid

chromatography method for the characterization of rhamnolipid mixtures produced by *Pseudomonas aeruginosa* UG2 on corn oil. **Journal of Chromatography A**, v. 864, p. 211–220, 1999.

MAVRODI, D. V.; BLANKENFELDT, W.; THOMASHOW, L. S. Phenazine Compounds in Fluorescent *Pseudomonas* Spp. Biosynthesis and Regulation. **Annual Review of Phytopathology**, v. 44, n. 1, p. 417–445, 2006.

MD NOH, N. A.; MOHD SALLEH, S.; YAHYA, A. R. M. Enhanced rhamnolipid production by *Pseudomonas aeruginosa* USM-AR2 via fed-batch cultivation based on maximum substrate uptake rate. **Letters in Applied Microbiology**, v. 58, n. 6, p. 617–623, 2014.

MEDINA, G.; JUÁREZ, K.; SOBERÓN-CHÁVEZ, G. The *Pseudomonas aeruginosa* rhlA operon is not expressed during the logarithmic phase of growth even in the presence of its activator RhlR and the autoinducer N-butryl-homoserine lactone. **Journal of Bacteriology**, v. 185, p. 377–380, 2003.

MEYER, H.-P.; KÄPPELI, O.; FIECHTER, A. Growth control in microbial cultures. **Annual Review of Microbiology**, v. 39, p. 299–319, 1985.

MILOT, S. et al. rhlA is required for the production of a novel biosurfactant promoting swarming motility in *Pseudomonas aeruginosa*: 3-(3-hydroxyalkanoyloxy) alkanolic acids (HAAs), the precursors of rhamnolipids. **Microbiology**, v. 149, n. 8, p. 2005–2013, 2003.

MNIF, I.; GHRIBI, D. Glycolipid biosurfactants: main properties and potential applications in agriculture and food industry. **Journal of the science of food and agriculture**, v. 96, n. 13, p. 4310–4320, 2016.

MONTEIRO, S. A. et al. Molecular and structural characterization of the biosurfactant produced by *Pseudomonas aeruginosa* DAUPE 614. **Chemistry and Physics of Lipids**, v. 147, n. 1, p. 1–13, 2007.

MONTEIRO, S. A. **Caracterização Molecular e Estrutural de Biosurfactantes Produzidos por *Pseudomonas aeruginosa* UFPEDA 614**. 2007. Universidade Federal do Paraná, 2007.

MORENO, R.; FONSECA, P.; ROJO, F. Two small RNAs, CrcY and CrcZ, act in concert to sequester the Crc global regulator in *Pseudomonas putida*, modulating catabolite repression. **Molecular Microbiology**, v. 83, n. 1, p. 24–40, 2012.

MÜLLER, M. M. et al. Rhamnolipids Next generation surfactants? **Journal of Biotechnology**, v. 162, n. 4, p. 366–380, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiotec.2012.05.022>>.

MULLIGAN, C.; GIBBS, B. Factors influencing the economics of biosurfactants. In: KOSARIC, N. (Ed.). **Biosurfactants: Production: Properties: Applications**. New York: Marcel Dekker Inc., 1993. p. 329–369.

MULLIGAN, C. N. Environmental applications for biosurfactants. **Environmental Pollution**, v. 133, n. 2, p. 183–198, 2005.

- MULLIGAN, C. N.; GIBBS, B. F. Correlation of nitrogen metabolism with biosurfactant production by *Pseudomonas aeruginosa*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 55, n. 11, p. 3016–3019, 1989.
- MUSK, D. J.; BANKO, D. A.; HERGENROTHER, P. J. Iron salts perturb biofilm formation and disrupt existing biofilms of *Pseudomonas aeruginosa*. **Chemistry and Biology**, v. 12, n. 7, p. 789–796, 2005.
- NEILANDS, J. B. Siderophores: diverse roles in microbial and human physiology. In: **Iron metabolism**. Medica: Elsevier, 1977. p. 107–124.
- NEITEC, N. de E. I. e T. **Evonik torna-se primeira empresa a produzir biossurfactantes em escala industrial**. Disponível em: <<https://neitec.com/tag/evonik/>>. Acesso em: 28 ago. 2018.
- NICKZAD, A.; GUERTIN, C.; DÉZIEL, E. Culture medium optimization for production of rhamnolipids by *Burkholderia glumae*. **Colloids and Interfaces**, v. 2, n. 4, p. 49, 2018.
- NITSCHKE, M.; COSTA, S. G. V. A. O. Biosurfactants in food industry. **Trends in Food Science and Technology**, v. 18, n. 5, p. 252–259, 2007.
- NITSCHKE, M.; COSTA, S. G. V. A. O.; CONTIERO, J. Structure and applications of a rhamnolipid surfactant produced in soybean oil waste. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 160, p. 2066–2074, 2010.
- NITSCHKE, M.; SILVA, S. S. e. Recent food applications of microbial surfactants. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 58, n. 4, p. 631–638, 2018.
- NURFARAHIN, A. H.; MOHAMED, M. S.; PHANG, L. Y. Culture medium development for microbial-derived surfactants production—An overview. **Molecules**, v. 23, n. 1049, p. 1–26, 2018.
- OCHSNER, U. A. et al. Isolation and Characterization of a Regulatory Gene Affecting Rhamnolipid Biosurfactant Synthesis in *Pseudomonas aeruginosa*. **Journal of Bacteriology**, v. 176, n. 7, p. 2044–2054, 1994.
- OCHSNER, U. A.; REISER, J. Autoinducer-mediated regulation of rhamnolipid biosurfactant synthesis in *Pseudomonas aeruginosa*. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 92, p. 6424–6428, 1995.
- OCHSNER, U. R. S. a; REISER, J.; FIECHTER, A. Production of *Pseudomonas aeruginosa* Rhamnolipid Biosurfactants in Heterologous Hosts. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 61, n. 9, p. 3503–3506, 1995.
- OLIVERA, N. L. et al. Microbial characterization and hydrocarbon biodegradation potential of natural bilge waste microflora. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 30, p. 542–548, 2003.
- OZDAL, M.; GURKOK, S.; OZDAL, O. G. Optimization of rhamnolipid production by *Pseudomonas aeruginosa* OG1 using waste frying oil and chicken feather peptone. **3 Biotech**,

v. 7, n. 2, p. 1–8, 2017.

PEIXOTO DE MELO, R. **Bioprospecção de microrganismos do gênero *Pseudomonas* produtores de biossurfactantes**. 2008. Universidade de Sao Paulo, 2008.

PEREIRA BRUMANO, L. **Produção de biossurfactante por levedura utilizando fermentação em estado sólido em bagaço de cana-de-açúcar**. 2017. Universidade de São Paulo, 2017.

PETERS, M. S.; TIMMERHOUSE, K. D.; WEST, R. E. Analysis of cost stimulation. In: **Plant design and economics for chemical engineers**. 5. ed. New York: McGraw Hill, 2003. p. 226–278.

PETROVA, O. E. et al. Microcolony formation by the opportunistic pathogen *Pseudomonas aeruginosa* requires pyruvate and pyruvate fermentation. **Molecular Microbiology**, v. 86, n. 4, p. 819–835, 2012.

PORNSUNTHORNTAWEE, O.; WONGPANIT, P.; RUJIRAVANIT, R. Rhamnolipid Biosurfactants: Production and their potencial in environmental biotecnology. In: SEN, R. (Ed.). **Surfactants**. [s.l.] Springer, 2010.

PRICE-WHELAN, A.; DIETRICH, L. E. P.; NEWMAN, D. K. Pyocyanin alters redox homeostasis and carbon flux through central metabolic pathways in *Pseudomonas aeruginosa* PA14. **Journal of Bacteriology**, v. 189, n. 17, p. 6372–6381, 2007.

RAHMAN, K. S. M. et al. Rhamnolipid Biosurfactant Production by Strains of *Pseudomonas aeruginosa* Using Low-Cost Raw Materials. **Biotechnol. Prog**, v. 18, p. 1277–1281, 2002.

RAMSAY, B. A. et al. Production of poly-(beta-hydroxybutyric-co-beta-hydroxyvaleric) acids. **Applied and environmental microbiology**, v. 56, n. 7, p. 2093–8, 1990. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=184565&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>.

RANDHAWA, K. K. S.; RAHMAN, P. K. S. M. Rhamnolipid biosurfactants — past, present, and future scenario of global market. **Frontiers in Microbiology**, v. 5, n. 454, p. 1–7, 2014.

REES, E. M. R.; STEWART, G. G. The effects of increased magnesium and calcium concentrations on yeast fermentation performance in high gravity worts. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 103, n. 5, p. 287–291, 1997.

REHM, B.; KRÜGER, N.; STEINBÜCHEL, A. A new metabolic link between fatty acid de novo synthesis and polyhydroxyalkanoic acid synthesis. **Journal of Biological Chemistry**, v. 273, n. 37, p. 24044–24051, 1998. Disponível em: <<http://www.jbc.org/content/273/37/24044.short>>.

REIS, R. S. et al. Effects of carbon and nitrogen sources on the proteome of *Pseudomonas aeruginosa* PA1 during rhamnolipid production. **Process Biochemistry**, v. 45, n. 9, p. 1504–1510, 2010.

REIS, R. S. et al. Biosurfactants: Production and Applications. In: **Biodegradation - Life of Science**. [s.l.] Intech, 2013. p. 31–61.

RESZKA, K. J. et al. Oxidation of pyocyanin, a cytotoxic product from *Pseudomonas aeruginosa*, by microperoxidase 11 and hydrogen peroxide. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 36, n. 11, p. 1448–1459, 2004.

RIIS, V.; MAI, W. Gas chromatographic determination microbial biomass after hydrochloric of poly-beta-hydroxybutyric acid propanolysis. **Journal of Chromatography**, v. 445, p. 285–289, 1988.

ROJO, F. Carbon catabolite repression in *Pseudomonas*: optimizing metabolic versatility and interactions with the environment. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 34, p. 658–684, 2010.

SACHDEV, D. P.; CAMEOTRA, S. S. Biosurfactants in agriculture. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 97, n. 3, p. 1005–1016, 2013.

SADOUK, Z.; HACENE, H.; TAZEROUTI, A. Biosurfactants production from low cost substrate and degradation of diesel oil by a *Rhodococcus* strain. **Oil & Gas Science and Technology**, v. 63, n. 6, p. 747–753, 2008.

SANTA ANNA, L. M. et al. Production of biosurfactant from *Pseudomonas aeruginosa* PA1 isolated in soil environments. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 19, p. 159–166, 2002.

SANTOS, A. S. et al. Evaluation of different carbon and nitrogen sources in production of rhamnolipids by a strain of *Pseudomonas aeruginosa*. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 98–100, p. 1025–1035, 2002.

SANTOS, D. et al. Biosurfactants: Multifunctional biomolecules of the 21st century. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 3, p. 401, 2016. Disponível em: <<http://www.mdpi.com/1422-0067/17/3/401>>.

SARANYA, V.; SHENBAGARATHAI, R. Effect of nitrogen and calcium sources on growth and production of PHA of *Pseudomonas* sp. LDC-5 and its mutant. **Journal of Biological Sciences**, v. 2, n. 3, p. 164–167, 2010.

SCHMIDBERGER, A. et al. Influence of ferric iron on gene expression and rhamnolipid synthesis during batch cultivation of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 98, n. 15, p. 6725–6737, 2014.

SCHREIBER, K. et al. Anaerobic survival of *Pseudomonas aeruginosa* by pyruvate fermentation requires an Usp-type stress protein. **Journal of Bacteriology**, v. 188, n. 2, p. 659–668, 2006.

SEN, R. (ed.). **Biosurfactants**. New York: Springer Science+Business Media, LLC, 2010. v. 672: Advan

SHA, R.; MENG, Q.; JIANG, L. The addition of ethanol as defoamer in fermentation of

rhamnolipids. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 87, n. 3, p. 368–373, 2012.

SHETE, A. M. et al. Mapping of patents on bioemulsifier and biosurfactant: A review. **Journal of Scientific and Industrial Research**, v. 65, n. 2, p. 91–115, 2006.

SILVA, S. N. R. L. et al. Glycerol as substrate for the production of biosurfactant by *Pseudomonas aeruginosa* UCP0992. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 79, n. 1, p. 174–183, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2010.03.050>>.

SILVER, S. Active transport of magnesium in *Escherichia coli*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 62, n. 3, p. 764–771, 1969.

SILVER, S. Bacterial interactions with mineral cations and anions: good ions and bad. In: WESTBROEK, P.; DE JONG, E. W. (Ed.). **Biomining and Biological Metal Accumulation**. Dordrecht: Springer, 1983. 41p. 439–457.

SILVER, S.; LUSK, J. E. **Bacterial Magnesium, Manganese, and Zinc Transport**. [s.l.] ACADEMIC PRESS, INC., 1987.

SINGH, A. K.; MALLICK, N. Biological system as reactor for the production of biodegradable thermoplastics polyhydroxyalkanoates. In: THANGADURAI, D.; SANGEETHA, J. (Ed.). **Industrial biotechnology - Sustainable production and bioresource utilization**. Oakville: Apple Academic Press, Inc., 2017. p. 282–323.

SINUMVAYO, J. P. Agriculture and Food Applications of Rhamnolipids and its Production by *Pseudomonas aeruginosa*. **Journal of Chemical Engineering & Process Technology**, v. 06, n. 02, p. 2–9, 2015. Disponível em: <<https://www.omicsonline.org/open-access/agriculture-and-food-applications-of-rhamnolipids-and-its-production-bypseudomonas-aeruginosa-2157-7048-1000223.php?aid=52509>>.

SNAVELYS, M. D. et al. Magnesium transport in *Salmonella typhimurium*. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 266, n. 2, p. 824–829, 1991.

SOARES DOS SANTOS, A.; PEREIRA JR, N.; FREIRE, D. M. G. Strategies for improved rhamnolipid production by *Pseudomonas aeruginosa* PA1. **PeerJ**, v. 4, p. e2078, 2016. Disponível em: <<https://peerj.com/articles/2078>>.

SOBERÓN-CHÁVEZ, G.; LÉPINE, F.; DÉZIEL, E. Production of rhamnolipids by *Pseudomonas aeruginosa*. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 68, p. 718–725, 2005.

SODAGARI, M.; INVALLY, K.; JU, L. K. Maximize rhamnolipid production with low foaming and high yield. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 110, n. September 2017, p. 79–86, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.enzmictec.2017.10.004>>.

SOLTANI DASHTBOZORG, S. Microbial Rhamnolipids as Environmentally Friendly Biopesticides: Congener Composition Produced, Adsorption in Soil, and Effects on *Phytophthora sojae*. 2015. Disponível em: <https://etd.ohiolink.edu/ap/10?0::NO:10:P10_ACCESSION_NUM:akron1438175115#abstra>.

ct-files>.

STEINBÜCHEL, A. Polyhydroxyalkanoic acids. In: **Biomaterials novel materials from biological sources**. New York: Macmillan Publishers Basingstoke, 1991. p. 123–213.

STRELEC, T. **Isolamento de bactérias produtoras de biosurfactantes rhamnolipídios e polihidroxicanoatos e avaliação da relação metabólica no processo de síntese**. 2006. Universidade de Sao Paulo, 2006.

SUBASIOGLU, T.; CANSUNAR, E. Nutritional factors effecting rhamnolipid production by a nosocomial *Pseudomonas aeruginosa*. **Hacettepe Journal of Biology and Chemistry**, v. 36, n. 1, p. 77–81, 2008.

SUTHERLAND, I. W. Biosynthesis of microbial exopolysaccharides. **Advances in Microbial Physiology**, v. 23, n. C, p. 79–150, 1982.

SYDALTK, C. et al. Production of four interfacial active rhamnolipids from n-alkanes or glycerol by resting cells of *Pseudomonas* species DMS 2874. **Zeitschrift für Naturforschung**, v. 40, p. 61–67, 1985.

TAVARES, L. F. D. et al. Characterization of rhamnolipids produced by wild-type and engineered *Burkholderia kururiensis*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 97, n. 5, p. 1909–1921, 2013.

TOYOFUKU, M.; O'TOOLE, G. A.; NOMURA, N. Anaerobic lifestyle of *Pseudomonas aeruginosa*. In: RAMOS, J.-L.; GOLDBERG, J. B.; FILLOUX, A. (Ed.). **Pseudomonas**. Dordrecht: Springer Science+Business Media, 2015. 7: New Aspp. 99–117.

VANDER WAUVEN, C. et al. *Pseudomonas aeruginosa* mutants affected in anaerobic growth on arginine: evidence for a four-gene cluster encoding the arginine deiminase pathway. **Journal of Bacteriology**, v. 160, p. 928–934, 1984.

VASIL, M. L.; OCHSNER, U. A. The response of *Pseudomonas aeruginosa* to iron: Genetics, biochemistry and virulence. **Molecular Microbiology**, v. 34, n. 3, p. 399–413, 1999.

VATSA, P. et al. Rhamnolipid biosurfactants as new players in animal and plant defense against microbes. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 11, n. 12, p. 5095–5108, 2010.

VIJAYAKUMAR, S.; SARAVANAN, V. Biosurfactants-types, sources and applications. **Research Journal of Microbiology**, v. 10, n. 5, p. 181–192, 2015.

WACKET, W. E. C. The biochemistry of Magnesium. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 162, n. 2, p. 717–726, 1969.

WALKER, G. M. The roles of magnesium in biotechnology. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 14, n. 4, p. 311–354, 1994.

WALKER, G. M. et al. Magnesium, Calcium, and Fermentative Metabolism in Industrial Yeasts. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, v. 54, 2014.

WALTER, V.; SYLDATK, C.; HAUSMANN, R. Biosurfactants, rhamnolipid, microbial

production. In: FLICKINGER, M. C. (Ed.). **Encyclopedia of industrial biotechnology: bioprocess, bioseparation, and cell technology**. [s.l.] John Wiley & Sons, Inc., 2010.

WEI, Y. H.; CHU, I. M. Enhancement of surfactin production in iron-enriched media by *Bacillus subtilis* ATCC 21332. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 22, n. 8, p. 724–728, 1998.

WILSON, R., D. A. et al. Measurement of *Pseudomonas aeruginosa* phenazine pigments in sputum and assessment of their contribution to sputum sol toxicity for respiratory epithelium. **Infection and Immunity**, v. 56, p. 2515–2517, 1988.

WINGENDER, J.; NEU, T. R.; FLEMMING, H.-C. (ed.). **Microbial Extracellular Polymeric Substances**. 1. ed. Berlin: Springer-Verlag, 1999.

WITTGENS, A. et al. Growth independent rhamnolipid production from glucose using the non-pathogenic *Pseudomonas putida* KT2440. **Microbial Cell Factories**, v. 10, n. 1, p. 80, 2011. Disponível em: <<http://www.microbialcellfactories.com/content/10/1/80>>.

WITTGENS, A. et al. Novel insights into biosynthesis and uptake of rhamnolipids and their precursors. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 2016. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27988798>>.

YE, R. et al. Anaerobic activation of the entire denitrification pathway in *Pseudomonas aeruginosa* requires ANR, an analog of FNR. **Journal of Bacteriology**, v. 177, n. 12, p. 3606–3609, 1995.

YEH, M. S.; WEI, Y. H.; CHANG, J. S. Bioreactor design for enhanced carrier-assisted surfactin production with *Bacillus subtilis*. **Process Biochemistry**, v. 41, n. 8, p. 1799–1805, 2006.

ZUMFT, W. G. Cell biology and molecular basis of denitrification. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 61, p. 533–616, 1997.

