



## Wydajność biosyntezy związków powierzchniowo czynnych przez *Candida antarctica* w zależności od składu pożywki i warunków hodowli

Marek Adamczak, Włodzimierz Bednarski

Instytut Biotechnologii Żywności  
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Olsztyn

### The yield of biosurfactants synthesis by *Candida antarctica* depending on medium composition and growth conditions

#### Summary

Synthesis of surface active agents by *Candida antarctica* was considered. Based on chemical structure it was found that biosurfactants synthesized by yeast are glycolipids. Yield of glycolipid synthesis was depended on carbon source (lipids, carbohydrates) in the medium. Synthesis of biosurfactants by *C. antarctica* was induced by the presence of oils in the medium. During cultivation of *C. antarctica* in a fermenter with a medium containing soybean oil 45.49 g/dm<sup>3</sup> of glycolipids was obtained.

#### Key words:

*Candida antarctica*, biosurfactants, glycolipids.

#### Adres do korespondencji

Marek Adamczak,  
Instytut Biotechnologii  
Żywności,  
Uniwersytet  
Warmińsko-Mazurski,  
ul. J. Heweliusza 1,  
10-724 Olsztyn.

## 1. Wprowadzenie

Nowoczesne biotechnologie umożliwiają zastosowanie mikroorganizmów do produkcji dodatków niezbędnych w technologii żywności. Jedną z możliwości w tym zakresie jest mikrobiologiczna synteza związków powierzchniowo czynnych (*biosur-*

*factants*) (1-4). Zalicza się do nich wszystkie związki chemiczne syntetyzowane przez mikroorganizmy, które oddziałują w jakikolwiek sposób na właściwości powierzchni fazowej lub międzyfazowej (2).

Większość stosowanych obecnie substancji aktywnych powierzchniowo otrzymuje się metodami syntezy chemicznej, jednak coraz powszechniejsze są przykłady stosowania w tym celu syntezy mikrobiologicznej (5).

W ostatnich latach zapotrzebowanie na związki powierzchniowo czynne zwiększyło się kilkakrotnie (2,5). Światowy rynek substancji aktywnych powierzchniowo szacowany jest obecnie na 9,4 mld USD rocznie. Planowany jest w ciągu najbliższych lat dalszy wzrost obrotów rocznych o około 3 mld USD (2). Dzieje się tak, dlatego że substancje te mogą znaleźć różne zastosowania, z uwagi na różne właściwości, np. zdolność emulgowania, stabilizacji i destabilizacji emulsji, niszczenie piany, mogą działać jako substancje rozpuszczające, zwilżające, zagęszczające, a także jako związki o działaniu antybakteryjnym (3). Większe zainteresowanie biosurfaktantami, niż związkami otrzymywanymi metodami chemicznymi, wynika z tego, że biosurfaktanty jako produkty „naturalne” są: biodegradowalne, nietoksyczne, działają specyficznie i są efektywne w szerokim zakresie kwasowości, temperatury, zasolenia środowiska itd. (3,6). Z tych względów zwiększa się zastosowanie biosurfaktantów w przemyśle spożywczym, farmaceutycznym, kosmetycznym, tekstylnym, rolnictwie oraz ochronie środowiska, np. do odzyskiwania tłuszczów (MEOR – *Microbially-Enhanced Oil Recovery*) (7-9).

Związki powierzchniowo czynne syntetyzowane przez mikroorganizmy należą do: glikolipidów, lipoprotein lub lipopeptydów, fosfolipidów, kwasów tłuszczowych, neutralnych lipidów, związków polimerowych. Klasyfikowane są jako związki powierzchniowo czynne specjalne, np. składniki ścian komórkowych niektórych mikroorganizmów (2,3).

Substancje aktywne powierzchniowo syntetyzowane przez różne mikroorganizmy są wydzielane na zewnątrz komórki lub pozostają z nią związane (3). Synteza tych substancji jest możliwa głównie podczas wzrostu mikroorganizmów w środowisku z substratami nierozpuszczalnymi w wodzie, choć znane są przykłady ich syntezy w środowisku z węglowodanami (11,12).

Wydajność biosyntezy substancji aktywnych powierzchniowo przez drożdże mieści się w granicach od kilku do kilkudziesięciu gramów z 1 dm<sup>3</sup> pożywki. Zależy ona w dużym stopniu od właściwości osobniczych szczepów, warunków ich hodowli w tym także od składu pożywki (11,17).

Celem badań była ocena wpływu składu pożywki oraz warunków hodowli na wydajność biosyntezy substancji aktywnych powierzchniowo przez *Candida antarctica*.



## 2. Materiały i metody

W badaniach stosowano szczep *Candida antarctica* 28323 ATCC. Czystą kulturę drożdży prowadzono na skośnych podłożach brzeczka-agar w 30°C.

### 2.1. Przygotowanie inokulum

W tym celu stosowano wyjałowioną (121°C/20 min) pożywkę o składzie (% wag./obj.): glukoza – 4%, NaNO<sub>3</sub> – 0,2%, MgSO<sub>4</sub> × 7H<sub>2</sub>O – 0,02%, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 0,02%, ekstrakt drożdżowy – 0,1%, rozlaną po 100 cm<sup>3</sup> do kolb stożkowych o pojemności 500 cm<sup>3</sup>. Do pożywki dodawano 10% (obj.) zawiesiny biomasy drożdży w roztworze soli fizjologicznej ze skosów brzeczka-agar. Hodowlę prowadzono metodą wgłębną wstrząsaną przy szybkości wstrząsania 200 obr/min, w wytrząsarce typu G-25 (New Brunswick), w temperaturze 30°C, przez 48 godzin.

### 2.2. Hodowla drożdży w fermentorze

Hodowlę *Candida antarctica* prowadzono w fermentorze BioFlo III firmy New Brunswick, przy roboczej objętości pożywki 2 dm<sup>3</sup>. Stosowano pożywkę o następującym składzie (% wag.): źródło węgla: olej sojowy lub glukoza lub laktoza lub tłuszcz drobiowy – 8%, NaNO<sub>3</sub>, MgSO<sub>4</sub> × 7H<sub>2</sub>O – 0,02%, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 0,02%, ekstrakt drożdżowy – 0,1%.

Po dodaniu do pożywki 10% (obj.) inokulum, hodowlę drożdży prowadzono w 30°C przy 50% zawartości tlenu rozpuszczonego w pożywce oraz szybkości przepływu powietrza przez pożywkę 1 vvm (przepływ przez pożywkę jednej jednostki objętości powietrza na jednostkę objętości pożywki w czasie minuty). Zawartość tlenu w pożywce określano po wyskalowaniu elektrody tlenowej (Ingold) na wartość 0% – brak mieszania i napowietrzania oraz 100% – szybkość mieszania 500 obr/min, przepływ powietrza 3 vvm.

### 2.3. Hodowla drożdży metodą wstrząsaną

Pożywkę (100 cm<sup>3</sup>, skład jak w pkt 2.2.) z olejem sojowym w kolbach stożkowych o pojemności 500 cm<sup>3</sup> sterylizowano w 121°C przez 20 min. Inokulum drożdży przygotowane wg pkt 2.1. dodawano w ilości 10% (obj.). Hodowlę *C. antarctica* prowadzono 6 dni w wytrząsarce typ G-25 (New Brunswick) w 30°C i szybkości wstrząsania 200 obr/min.

## 2.4. Kontrola hodowli drożdży

W czasie hodowli drożdży co 24 godziny pobierano próbki i prowadzono następujące oznaczenia:

- przyrost biomasy (g s.s./dm<sup>3</sup>). Oznaczenie prowadzono metodą suszenia w 105°C po wydzieleniu biomasy z pożywki metodą wirowania przy 1500 × g przez 20 min i przemyciu mieszaniną metanol:chloroform (10:1; obj.), a następnie wodą;
- kwasowość czynną pożywki (pH);
- napięcie powierzchniowe płynu pohodowlanego (× 10<sup>-3</sup> N/m) przy zastosowaniu stalagmometru. Pomiar wykonywano wobec wody destylowanej w temperaturze 25°C. Wartość napięcia powierzchniowego (σ) obliczano wg zależności:

$$\sigma_{\text{płynu pohodowlanego}} = \left( \frac{n_{\text{wody}}}{n_{\text{płynu pohodowlanego}}} \right) \times \sigma_{\text{wody}}$$

$n_{\text{wody}}$ ,  $n_{\text{płynu pohodowlanego}}$  – liczba kropli wypływających ze stalagmometru odpowiednio wody i płynu pohodowlanego;

$\sigma_{\text{wody}}$  – napięcie powierzchniowe wody (72,75 × 10<sup>-3</sup> N/m).

- zawartość glikolipidów zewnątrzkomórkowych (g/dm<sup>3</sup>). W tym celu 100 cm<sup>3</sup> płynu pohodowlanego wraz z biomasą umieszczano w rozdzielaczu a 500 cm<sup>3</sup> i dodawano octan etylu w proporcji 1:2 (obj.). Frakcję składników rozpuszczalnych w octanie etylu zbierano i rozpuszczalnik odparowywano w wyparce rotacyjno-próżniowej. Pozostałość po odparowaniu rozpuszczano w metanolu i przenoszono do rozdzielacza. Całość przemycano dwukrotnie heksanem w stosunku 1:2 (obj.). Frakcję metanolową zbierano i rozpuszczalnik odparowywano w 50°C. Pozostałość po odparowaniu rozpuszczano w 50 cm<sup>3</sup> chloroformu i przepuszczano przez złożę bezwodnego siarczanu sodowego do kolb o pojemności 100 cm<sup>3</sup>. Chloroform odparowywano w 50°C, pozostałość suszono w suszarce próżniowej w 50°C, a następnie ważono.

## 2.5. Analiza chromatograficzna biosurfaktantów

Analizę biosurfaktantów prowadzono metodą chromatografii cienkowsarstwowej na żelu krzemionkowym G-60 (Merck). Jako układ rozwijający stosowano mieszaninę: chloroform : metanol : woda (65 : 15 : 2; obj.). Detekcję glikolipidów prowadzono spryskując płytki odczynnikami antronowym, a następnie przetrzymując je przez 10-20 minut w temperaturze 110°C.

Wszystkie wyniki są średnią z trzech oznaczeń. Wysokość słupków błędów na wykresach odpowiada odchyleniu standardowemu.



### 3. Omówienie wyników

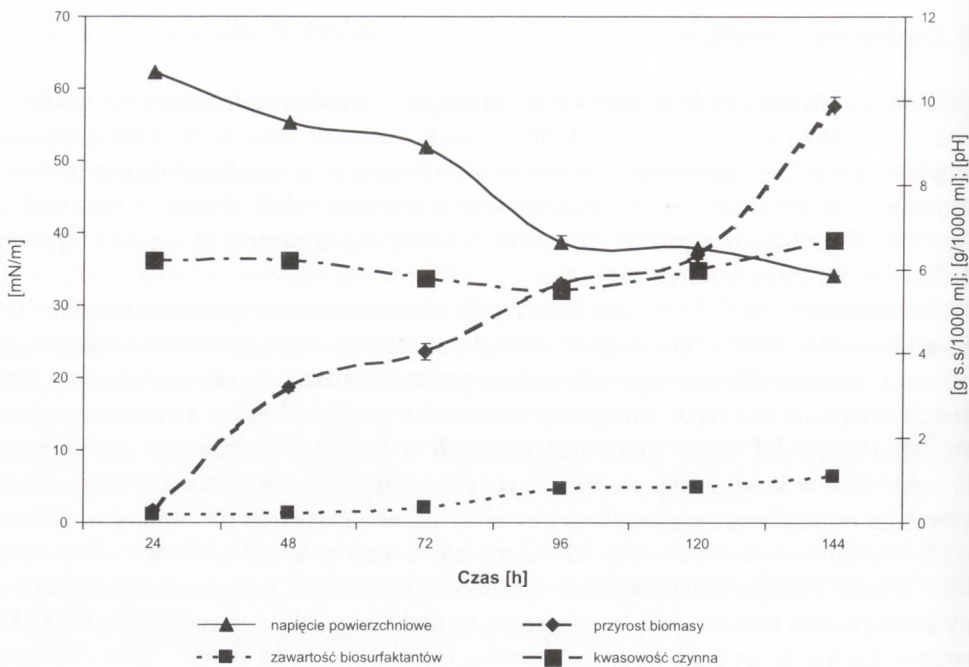
Syntetyzowane przez *C. antarctica* glikolipidy są związkami zewnątrzkomórkowymi, ale także gromadzone są w niewielkich ilościach związki o aktywności powierzchniowej wewnątrz komórki lub jako związane ze ścianą komórkową. Badane drożdże w różny sposób zachowywały się w środowisku hydrofilowym i hydrofobowym, co świadczy o zmianie właściwości ściany komórkowej w wyniku syntezy związków powierzchniowo czynnych.

Stwierdzono, że *C. antarctica* syntetyzuje związki aktywne powierzchniowo także podczas hodowli w pożywkach z węglowodanami. Rola jaką pełnią substancje powierzchniowo aktywne syntetyzowane przez drożdże, jak się wydaje, jest złożona i obejmuje nie tylko emulgację składników podłoża i przez to poprawę przyswajalności źródeł węgla nierozpuszczalnych w wodzie. Zachowanie się biomasy *C. antarctica* w środowisku wodnym i rozpuszczalników organicznych może wskazywać na oddziaływanie związków powierzchniowo czynnych na zmianę właściwości hydrofilowo-hydrofobowych ich ściany komórkowej. Według Francy i wsp. (10), którzy tego rodzaju zmiany zaobserwowali wśród bakterii, zmiany właściwości ściany komórkowej umożliwiają bezpośredni kontakt komórki z rozproszoną fazą nierozpuszczalną w wodzie. Badania dotyczące roli jaką mogą pełnić syntetyzowane przez mikroorganizmy związki powierzchniowo czynne wskazują na ich udział w adhezji komórek pozwalającej na wyższą ich stabilność w niesprzyjających warunkach środowiska, a także w desorpcji komórek oraz działaniu antagonyzującym wobec innych mikroorganizmów.

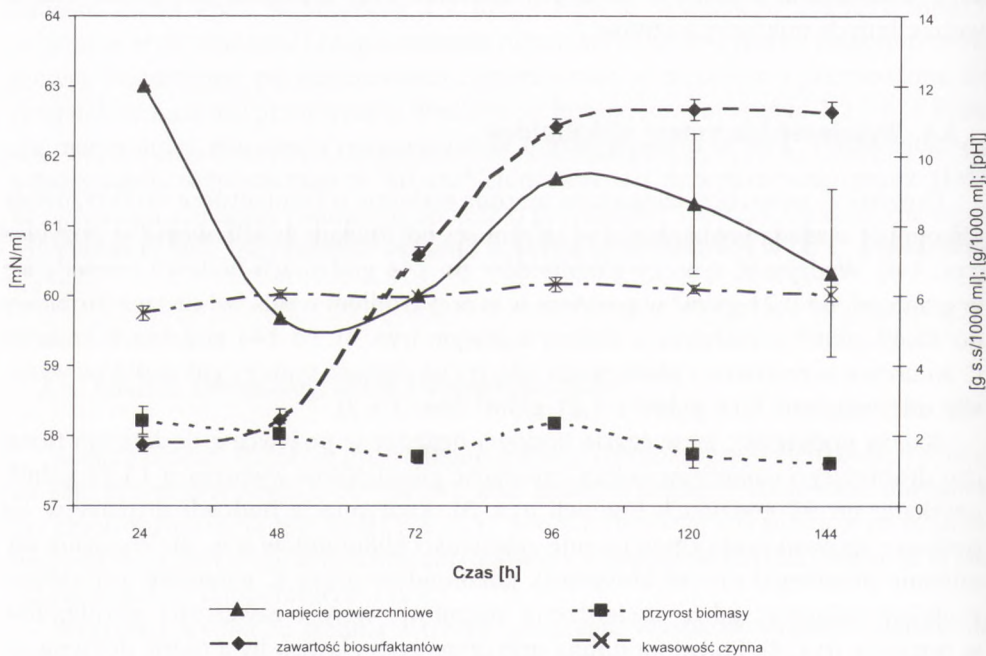
#### 3.1. Wydajność biosyntezy glikolipidów

Drożdże *C. antarctica* namnażane metodą wglębną w fermentorze syntetyzowały glikolipidy z różną wydajnością w zależności od rodzaju źródła węgla w pożywce (rys. 1-4). Wydajność syntezy glikolipidów po 144 godzinach hodowli mieściła się w granicach od 0,21 g/dm<sup>3</sup> w pożywce w której źródłem węgla był tłuszcz drobiowy do 45,49 g/dm<sup>3</sup> w pożywce z olejem sojowym (rys. 4). Po 144 godzinach hodowli *C. antarctica* w pożywce z glukozą lub laktozą wydajność syntezy glikolipidów wynosiła odpowiednio 1,11 g/dm<sup>3</sup> i 1,21 g/dm<sup>3</sup> (rys. 1 i 2).

Należy podkreślić, że w czasie hodowli drożdży w pożywce z dodatkiem tłuszczu drobiowego najkorzystniejszą zawartość glikolipidów wynoszącą 13,28 g/dm<sup>3</sup>, uzyskano po 96 godzinach hodowli (rys. 3). Kontynuacja hodowli drożdży w tej pożywce spowodowała zmniejszenie zawartości glikolipidów (rys. 3). Wyraźnie odmiennie przebiegał proces biosyntezy glikolipidów przez *C. antarctica* w pożywce z olejem sojowym, gdzie stwierdzono stopniowy wzrost zawartości glikolipidów w pożywce (rys. 4). Prawdopodobną przyczyną tych zjawisk była różna dostępność źródła węgla. Tłuszcz drobiowy jako substrat zbudowany z kilku frakcji, o różnej

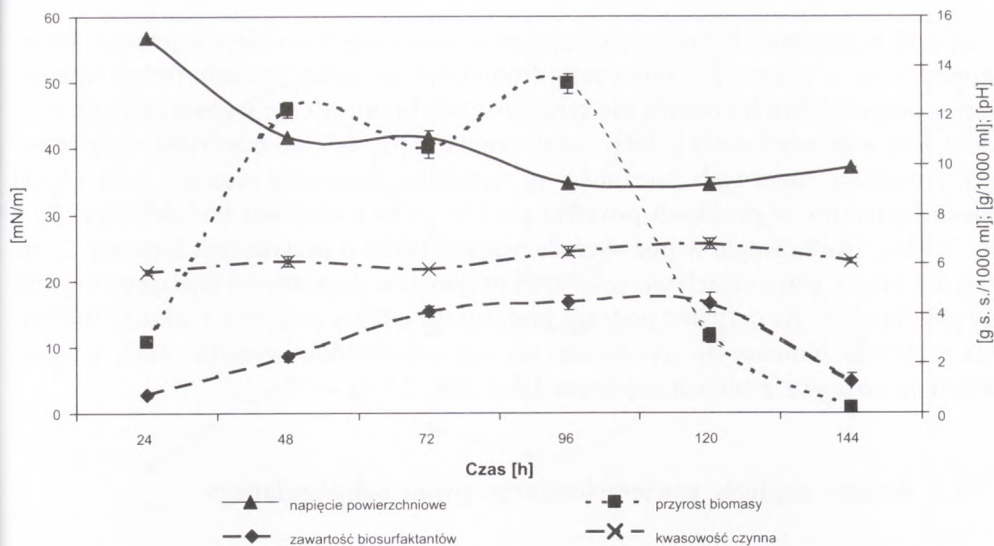


Rys. 1. Charakterystyka hodowli *C. antarctica* w fermentorze w pożywce z dodatkiem 8% glukozy.

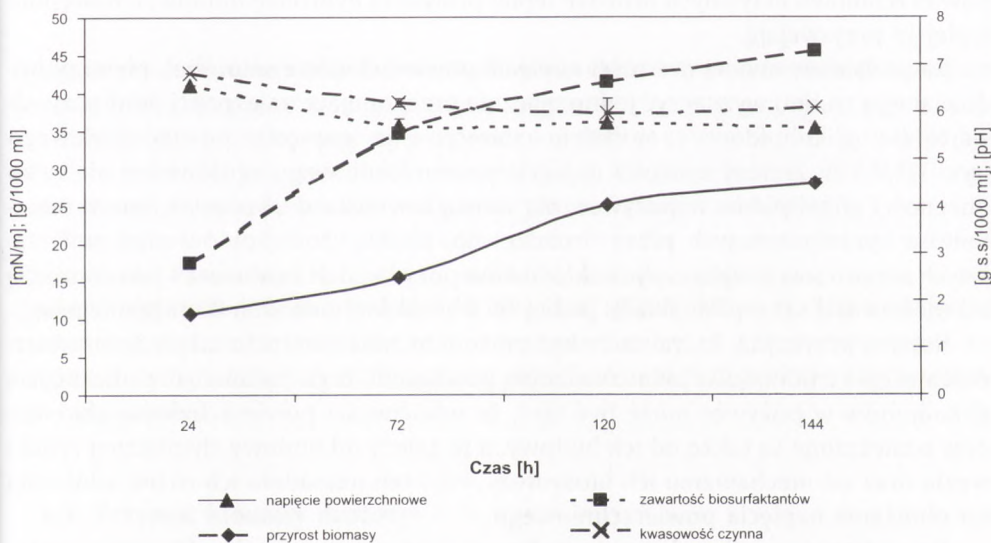


Rys. 2. Charakterystyka hodowli *C. antarctica* w fermentorze w pożywce z dodatkiem 8% laktozy.





Rys. 3. Charakterystyka hodowli *C. antarctica* w fermentorze w pożywce z dodatkiem 8% tłuszczu drobiowego.



Rys. 4. Charakterystyka hodowli *C. antarctica* w fermentorze w pożywce z dodatkiem 8% oleju sojowego.

dyspersji w pożywce, był mniej dostępnym źródłem węgla od oleju sojowego. Prawdopodobnie w pożywce z tłuszczem drobiowym po wykorzystaniu frakcji lipidów łatwo przyswajalnych drożdże nie syntetyzowały biomasy i nie wytwarzały glikolipidów, lecz wykorzystywały je jako źródło węgla, tj. energii lub materiału budulcowego. Potwierdzeniem tych zależności są niewielkie przyrosty biomasy oraz ubytki biosurfaktantów w próbkach pożywki po 120 i 144 godzinach hodowli (rys. 3).

Rodzaj źródła węgla w pożywce decydował także o przyrostach biomasy *C. antarctica* oraz o proporcjach wartości tych przyrostów do wartości wydajności syntezy glikolipidów. Na przykład podczas hodowli drożdży w pożywce z laktozą proporcja przyrostu biomasy do wydajności syntezy glikolipidów wynosiła 10:1, a w hodowli w pożywce z olejem sojowym 1,6:1 (rys. 2 i 4).

### 3.2. Zmiany napięcia powierzchniowego płynu pohodowlanego

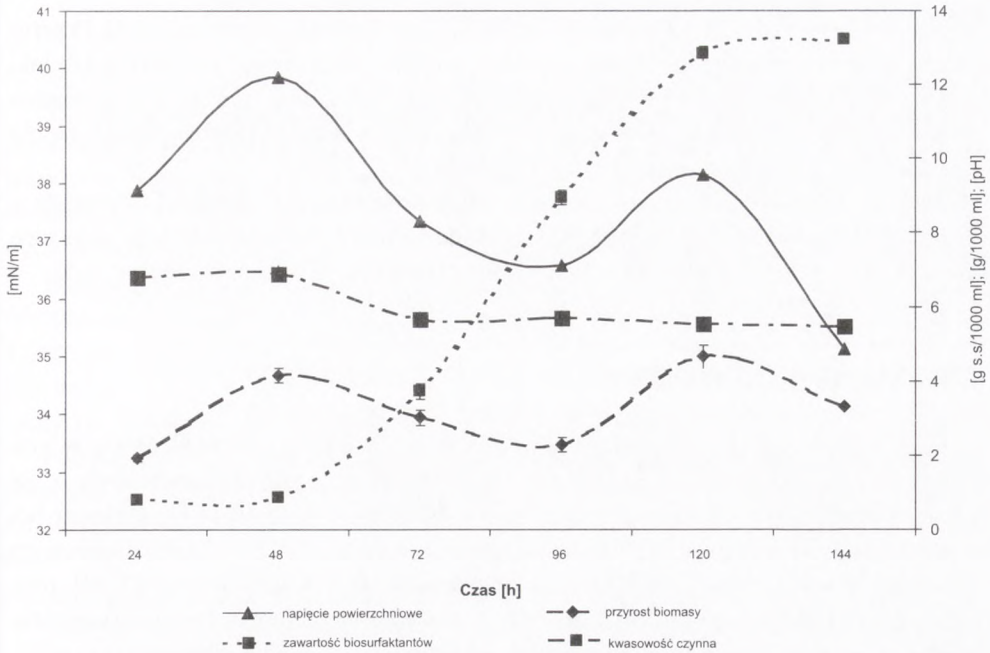
Z dokonanej oceny wartości napięcia powierzchniowego po hodowli drożdży *C. antarctica* wynika, że zależy ona od początkowego składu pożywki oraz od zawartości glikolipidów w pożywce (rys. 1,2,3 i 4). Pożywki z dodatkiem oleju sojowego lub tłuszczu drobiowego charakteryzowały się wyższymi wartościami napięcia powierzchniowego w porównaniu do pożywek z laktozą lub glukozą. Okazało się także, iż dodatek tłuszczów do pożywek, w tym szczególnie oleju sojowego stymuluje biosyntezę glikolipidów przez drożdże. Z udziałem syntetyzowanych związków powierzchniowo aktywnych drożdże lepiej prowadzą hydrolizę lipidów, a następnie lepiej je przyswajają.

Na podstawie analizy wartości napięcia powierzchniowego próbek płynu pohodowlanego trudno wyznaczyć jednoznacznie przekonujące zależności pomiędzy zawartością glikolipidów i stopniem zmniejszenia napięcia powierzchniowego (rys. 1,2,3 i 4). Zmiany wartości napięcia powierzchniowego są skutkiem nie tylko obecności glikolipidów w pożywce, ale zależą również od obecności innych metabolitów syntetyzowanych przez drożdże, np. białek i fosfolipidów oraz zmieniających się proporcji wyjściowych składników pożywki. Ich zawartość i jakość zależą od właściwości szczepów, składu pożywki i warunków hodowli mikroorganizmów.

Kolejną przyczyną, która może być powodem zmian wartości napięcia powierzchniowego i trudności w jednoznacznym powiązaniu tego parametru z obecnością glikolipidów w pożywce może być fakt, że właściwości powierzchniowe glikolipidów uzależnione są także od ich budowy, a ta zależy od budowy chemicznej źródła węgla oraz od mechanizmu ich biosyntezy. Fakt ten uzasadnia ich różne zdolności do obniżania napięcia powierzchniowego.

Na podstawie analizy chromatograficznej zaobserwowano, że glikolipidy syntetyzowane przez *C. antarctica* są niejednorodne. W ich skład wchodzi co najmniej cztery różne frakcje, które charakteryzują się różną budową, co w konsekwencji determinuje ich różną aktywność powierzchniową. Potwierdzają to badania charakte-





Rys. 5. Charakterystyka hodowli *C. antarctica* metodą wglębną wstrząsaną w pożywce z dodatkiem 8% oleju sojowego.

ryzujące poszczególne związki powierzchniowo czynne syntetyzowane przez *C. antarctica* T-34 (14).

Glikolipidy syntetyzowane są w różnych ilościach w zależności od warunków hodowli i w określonych warunkach pomimo dużej ich zawartości w pożywce mogą powodować jedynie niewielkie zmiany aktywności powierzchniowej.

O wydajności biosyntezy glikolipidów przez drożdże decyduje również metoda ich hodowli. Prowadząc hodowlę *C. antarctica* metodą wglębną wstrząsaną w pożywce z olejem sojowym uzyskano 13,24 g/dm<sup>3</sup> glikolipidów, tj. 30% wydajności otrzymanej podczas hodowli drożdży w fermentorze (rys. 4 i 5). Potwierdzono także, że o wydajności procesu biosyntezy glikolipidów decydują także napowietrzanie i mieszanie.

### 3.3. Przyrost biomasy drożdży

Oceniając przyrosty biomasy *C. antarctica* wykazano, że zależą one od źródła węgla w pożywce oraz od czasu i metody prowadzenia hodowli. Po 144 godzinach hodowli drożdży przyrost biomasy drożdży wynosił od 1,27 g s.s./dm<sup>3</sup> pożywki z tłuszcz-

czem drobiowym, do 28,12 g s.s./dm<sup>3</sup> pożywki z olejem sojowym (rys. 3,4). Przyrosty biomasy *C. antarctica* po 144 godzinach hodowli w pożywce z glukozą lub laktozą wynosiły odpowiednio 9,88 g s.s./dm<sup>3</sup> i 11,25 g s.s./dm<sup>3</sup> (rys. 1,2). Z porównania wydajności biosyntezy glikolipidów i przyrostów biomasy drożdży widać, że nie występują tu zależności wprost proporcjonalne.

Przyrost biomasy *C. antarctica* zależał także od metody ich hodowli. Prowadząc hodowlę drożdży metodą wglębną wstrząsaną w pożywce z olejem sojowym uzyskano 3,31 g s.s./dm<sup>3</sup> wobec 28,12 g s.s./dm<sup>3</sup> w hodowli w fermentorze (rys. 4,5).

### 3.4. Kwasowość czynna pożywki

W przeprowadzonych doświadczeniach kwasowość pożywki mieściła się w granicach od pH 5,5 do pH 6,8. Zmiany kwasowości pożywki związane były z jej składem oraz metodą prowadzenia hodowli drożdży. W czasie 144-godzinnej hodowli drożdży w pożywce z glukozą, względnie laktozą lub tłuszczem drobiowym stwierdzono niewielkie zmniejszenie kwasowości o 0,4-0,55 jednostki pH (rys. 1,2,3). Po 144 godzinach hodowli drożdży w pożywce z olejem sojowym stwierdzono zmniejszenie wartości pH płynu hodowlanego o 0,7-1,33 jednostki (rys. 4,5).

O zmianach kwasowości pożywki decydowała metoda hodowli drożdży. Większe zakwaszenie środowiska stwierdzono po hodowli *C. antarctica* metodą wglębną wstrząsaną (rys. 5). Przyczyną zakwaszenia pożywki z olejem sojowym był intensywny rozwój drożdży oraz enzymatyczna hydroliza lipidów prowadząca do uwalniania kwasów tłuszczowych.

Na podstawie przeprowadzonych badań można stwierdzić, że wydajna biosynteza glikolipidów przebiegała w pożywce o kwasowości w granicach pH 5,7-6,0.

## 4. Dyskusja wyników

W przeprowadzonych badaniach potwierdzono możliwości biosyntezy związków powierzchniowo aktywnych przez drożdże *C. antarctica*. Z badań Kitamoto i wsp. (14-16) wynika, że drożdże *C. antarctica* syntetyzują zewnętrzkomórkowe, mannozyloerytrytolowe pochodne lipidowe i one prawdopodobnie stanowią główną grupę glikolipidów otrzymywanych w przedstawionym doświadczeniu.

Kitamoto i wsp. (15) prowadząc hodowlę *C. antarctica* T-34 metodą wglębną wstrząsaną w pożywce z udziałem olejów m.in. słonecznikowego, sojowego uzyskał maksymalną wydajność glikolipidów 40 g/dm<sup>3</sup>. Autorzy ci wykazali także, że synteza glikolipidów przez drożdże uzależniona jest od źródła węgla oraz warunków natlenienia pożywki (14-16). Potwierdzeniem tych zależności są wyniki prezentowanych badań, w których stwierdzono, że w biosyntezie glikolipidów niezbędnym źródłem węgla są tłuszcze, najlepiej olej sojowy. O przydatności tłuszczów stosowanych



w tym celu decyduje ich skład chemiczny oraz właściwości fizyczne, np. temperatura topnienia, możliwości zdyspergowania, itp.

W prezentowanych badaniach interesujące jest wykazanie, że synteza związków powierzchniowo czynnych przez *C. antarctica* możliwa jest w pożywkach z cukrami jako głównymi źródłami węgla. Po raz kolejny została zweryfikowana hipoteza o zależności mikrobiologicznej biosyntezy surfaktantów od obecności nierozpuszczalnych w wodzie substratów, np. tłuszczów.

Należy podkreślić, że prowadząc hodowlę *C. antarctica* metodą wglębną w fermentorze łatwiej jest sterować procesem natlenienia pożywki. Prawdopodobnie z tego powodu uzyskana wydajność biosyntezy glikolipidów na poziomie 45,49 g/dm<sup>3</sup> jest wyższa od wydajności procesu prowadzonego metodą wglębną wstrząsaną. Dotyczy to zarówno wyników badań Kitamoto i wsp. (15) oraz własnych (rys. 4,5).

Poważnym problemem towarzyszącym procesowi biosyntezy związków powierzchniowo czynnych przy wysokim natlenieniu podłoża hodowlanych jest pienienie. Rozwiązanie tego problemu będzie przedmiotem następnego etapu badań. Planowane jest wykorzystanie immobilizowanych komórek drożdży oraz chemiczne łamanie piany.

Obecnie prowadzimy badania zmierzające do ustalenia wpływu warunków natlenienia pożywki w czasie biosyntezy glikolipidów przez *C. antarctica* w hodowli wglębnej w fermentorze.

## 5. Podsumowanie

Przeprowadzono badania zmierzające do ustalenia korzystnych warunków biosyntezy powierzchniowo aktywnych glikolipidów przez *C. antarctica*. Stwierdzono, że o wydajności biosyntezy glikolipidów decyduje źródło węgla w pożywce oraz warunki hodowli. Najkorzystniejszą wydajność syntezy glikolipidów 45,49 g/dm<sup>3</sup> uzyskano po 144 godzinach hodowli *C. antarctica* prowadzonej w pożywce z olejem sojowym jako jedynym źródłem węgla, metodą wglębną w fermentorze. W hodowli drożdży w tej samej pożywce metodą wglębną wstrząsaną wydajność syntezy glikolipidów wynosiła 13,24 g/dm<sup>3</sup>.

We wstępnej ocenie właściwości otrzymanych glikolipidów wykazano ich zdolność zmniejszania napięcia powierzchniowego oraz emulgowania. Eksperymentalnie wykazano, że mogą one być składnikiem emulgatorów przydatnych w przemyśle spożywczym lub komponentem roztworów do remediacji gleby, np. do usuwania olejów z zanieczyszczonych gruntów.

## Literatura

1. Bednarski W., Adamczak M., (1999), *Biotechnologia*, 4(47), 24-44.
2. Desai J. D., Banat J. M., (1997), *Microbial. Mol. Biol. Rev.*, 61(1), 47-64.

3. Kosaric N., (1995), *Biosurfactants*, Eds. G. Reed, T. W. Nagodawithana, VCH, Weinheim, 660-717.
4. Wagner F., (1987), *Fat. Sci. Technol.*, 586-591.
5. Lin S. C., (1996), *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, 66, 109-120.
6. Dickinson E., (1993), *Trends Food Sci. Technol.*, 41, 330-333.
7. Banat J. M., Samarah N., Murad M., Horne R., Banerjee S., (1991), *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 7, 80-88; Banat J. M., (1995), *Acta Biotechnol.*, 15, 251-267.
8. Banat J. M., (1995), *Bioresource Technol.*, 51, 1-12.
9. Francy D. S., Thomas J. M., Raymond R. L., Ward C. H., (1991), *J. Ind. Microbiol.*, 8, 237-246.
10. Hommel R. K., Stegner S., Huse K., Kleber H. P., (1994), *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 40, 724-728.
11. Hommel R. K., Stegner S., Ziebolz C., Weber L., Kleber H. P., (1990), *Microbiol. Lett.*, 45, 417-447.
12. Hommel R. K., Stüwer D., Stuber W., Hoferburg D., Kleber H. P., (1987), *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 26, 199-205.
13. Kitamoto D., Yanagishita H., Shinbo T., Nakone T., Kamisawa C., Nakahara T., (1993), *J. Biotechnol.*, 29, 91-96.
14. Kitamoto D., Akiba S., Hioki C., Tabuchi T., (1990), *Agric. Biol. Chem.*, 54, 31-36.
15. Kitamoto D., Yanagishita H., Haraya K., Kitamoto H. K., (1995), *Biotechnol. Lett.*, 17, 25-30.
16. Hommel R. K., Huse K., (1993), *Biotechnol. Lett.*, 15, 853-858.