

Biotechnologiczne metody otrzymywania związków powierzchniowo aktywnych.

Część II. Synteza związków powierzchniowo aktywnych przez mikroorganizmy

Włodzimierz Bednarski

Marek Adamczak

Instytut Biotechnologii Żywności
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski
Olsztyn

1. Wstęp

W dążeniach do zmniejszenia udziału syntetycznych surfaktantów w przemyśle spożywczym, kosmetycznym i farmaceutycznym oraz w ochronie środowiska zwraca się uwagę na możliwości ich zastąpienia odpowiednikami otrzymywanymi metodą biosyntezy mikrobiologicznej (1-3). Predyspozycje do syntezy związków powierzchniowo aktywnych (biosurfaktantów) wykazują bakterie oraz drożdże (4). Biosurfaktanty mikrobiologiczne swoimi właściwościami przewyższają odpowiedniki otrzymywane chemicznie przede wszystkim, dlatego że można je stosować w szerokim zakresie temperatury, kwasowości oraz stężenia soli (6,46).

Biosurfaktanty otrzymywane metodą mikrobiologiczną dzieli się zazwyczaj na następujące grupy:

- glikolipidy (ramnolipidy, trehalozolipidy, celobiozolipidy),
- lipopeptydy i lipoproteiny (surfaktyna, subtylizyna, gramicydyna, polimyksyna),
- surfaktanty polimeryczne (emulsan, biodispersan, kompleks mannan-lipidy-proteiny, liposan),
- kwasy tłuszczowe, neutralne lipidy, fosfolipidy,
- tzw. specyficzne biosurfaktanty, do których zalicza się np. całe komórki niektórych drobnoustrojów.

Biosurfaktanty syntetyzowane przez różne mikroorganizmy, są substancjami zewnątrzkomórkowymi bądź są związanymi z komórką. Ich obecność stwierdza się głównie podczas wzrostu mikroorganizmów w podłożach zawierających nierozpuszczalne w wodzie substraty (1). Rola jaką odgrywają bio-

surfaktanty nie jest w pełni poznana. Spekuluje się o ich udziale w emulgowaniu nierozpuszczalnych w wodzie substratów, ale mówi się również o ich udziale w adhezji komórek i zwiększaniu ich odporności na działanie szkodliwych czynników środowiska, a także w desorpcji komórek czy też działaniu antymikrobiologicznym (6-11).

Do lepiej poznanych biosurfaktantów mikrobiologicznych należy zaliczyć z grupy glikolipidów, np. ramnolipidy R3 z *Pseudomonas aeruginosa*, soforolipidy z *Candida apicola*, bądź *Candida bombicola* z grupy lipopeptydów np. subtylinę z *Bacillus subtilis*, ze związków polisacharydowo-proteinowych np. liposan z *Candida lipolytica* (5). Mannoproteinowy kompleks o właściwościach emulgujących występuje w ścianach komórek *Saccharomyces cerevisiae* (11). W skali przemysłowej produkowany jest emulsan — kompleks heteropolisacharydowo-lipidowy, syntetyzowany przez *Acinetobacter calcoaceticus*. W składzie kompleksu występują: N-acetylogalaktoamina, kwas uronowy, kwasy tłuszczowe (10-15% s.s.), które są kowalencyjnie związane z polisacharydami (5).

Biosynteza surfaktantów jest najczęściej związana z namnażaniem drobnoustrojów w podłożu z udziałem węglowodorów lub tłuszczów lub olejów lub glicerolu lub węglowodanów (12,13). Mikrobiologiczne związki aktywne powierzchniowo są zazwyczaj metabolitami zewnątrzkomórkowymi o charakterze amfifilowym. Ich część hydrofilową stanowią najczęściej mono-, oligo- lub polisacharydy, aminokwasy, białka itp. W składzie części lipofilnych biosurfaktantów występują jeden lub więcej długocząsteczkowych kwasów tłuszczowych lub hydroksykwasów tłuszczowych lub α -alkilo- β -hydroksykwasów tłuszczowych zawierające od 30 do 40 atomów węgla w cząsteczce. Są one zestryfikowane poprzez grupę acylową lub wiązanie glikozydowe z częścią hydrofilową surfaktanta. Charakterystykę wybranych biosurfaktantów mikrobiologicznych przedstawiono w tabeli 1 (13).

Budowa chemiczna biosurfaktantów, wydajność ich biosyntezy oraz właściwości emulgujące, zdolność do obniżania napięcia powierzchniowego zależą od: rodzaju, gatunku, szczepów drobnoustrojów, składu podłoża oraz warunków hodowli (12).

Celem artykułu jest przybliżenie ważniejszych aspektów poznawczych oraz aplikacyjnych dotyczących otrzymywania, charakterystyki i zastosowania biosurfaktantów mikrobiologicznych.

2. Otrzymywanie i charakterystyka glikolipidów

Glikolipidy są najliczniejszą i najlepiej poznaną grupą biosurfaktantów syntetyzowanych przez drobnoustroje (1). Są one syntetyzowane głównie przez bakterie lub drożdże namnażane w podłożach z hydrofobowym źródłem węgla np. frakcjami ropy naftowej, tłuszczami zwierzęcymi lub olejami roślinnymi. Do ważnych czynników decydujących o wydajności syntezy glikolipidów należy zaliczyć skład podłoża w tym proporcję zawartości źródła węgla do zawartości źródła azotu.

TABELA 1
PRZYKŁADY BUDOWY CHEMICZNEJ ORAZ WYSTĘPOWANIA BIOSURFAKTANTÓW (7)

Biosurfaktant	Budowa części hydrofobowej	Rodzaj wiązania chemicznego	Ładunek biosurfaktanta	Miejsce występowania
cellobiozolidy	kwas 15, 16-dihydroksyheksadekanowy; kwas β -hydroksy C6 lub C8	glikozydowe; estrowe	anion	zewnątrz-komórkowy
ramnolidy	kwas β -hydroksydekanowy	glikozydowe; estrowe	anion	zewnątrz-komórkowy
soforolidy	kwas 17-hydroksyoktadekanowy	glikozydowe; laktonowe	związek niejonowy	zewnątrz-komórkowy
trehalozodiestry	kwas korynomykolowy*	estrowe	związek niejonowy	ściana komórkowa
trehalozotetraestry	kwasy C7 do C18	estrowe	anion	zewnątrz-komórkowy
mono-, di-, trisacharydy	kwas korynomykolowy	estrowe	związek niejonowy	ściana komórkowa
surfaktyna	kwas β -hydroksy-C15; peptydy	estrowe; amidowe	anion	zewnątrz-komórkowy

* α -alkilo- β -hydroksykwasy tłuszczowe od C32 do C40.

W zależności od właściwości fenotypowych mikroorganizmów syntetyzują one glikolipidy związane ze ścianą komórkową lub jako metabolity zewnątrz-komórkowe. Przykładem glikolipidu związanego ze ścianą komórkową producenta jest α, α' -trehalozo-6,6'-dikorynomykolat syntetyzowany przez *Rhodococcus erythropolis* w podłożu mineralnym ze źródłem węgla w postaci n-alkanów (od C13 do C16) (13). *Rhodococcus erythropolis* namnażany w podłożach z dobranym źródłem węgla bez limitowania zawartości azotu syntetyzuje wyłącznie niejonowe trehalozo-dikorynomykolaty. Kontrolowane, limitowanie zawartości azotu w podłożu prowadzi do zmiany metabolizmu komórek. Głównym glikolipidem syntetyzowanym wówczas jest anionowy trehalozo-czteroester, a trehalozo-dikorynomykolat jest syntetyzowany w małych ilościach. Limitowanie zawartości azotu w podłożu wpływa nie tylko na strukturę syntetyzowanych glikolipidów, lecz także na wydajność biokonwersji substratu w glikolipidy (tab. 2) (13).

Synteza trehalozo-czteroestrów przez *Rhodococcus erythropolis* jest również typowym przykładem możliwości zmiany składu części lipofilnej glikolipidów przez dobór źródła węgla w podłożu (13). Z danych przedstawionych w tabeli 3 nie trudno zauważyć, że zmiana rodzaju źródła węgla w podłożu decyduje o budowie części węglowodanowej glikolipidów syntetyzowanych przez *Rhodococcus erythropolis* (13). Wnioskować można również o właściwościach biosurfaktantów różniących się składem chemicznym.

TABELA 2

CHARAKTERYSTYKA SYNTEZY TREHALOZOLIPIDÓW PRZEZ *Rhodococcus erythropolis* W PODŁOŻU Z N-ALKANAMI (7)

Warunki syntezy	Wydajność konwersji (g produktu/ g substratu)	Skład produktu	
		trehalozodikorynomy- kolat	trehalozotetraester
komórki rosnące: bez występowania czynników limitujących	0,15	100	-
limitowanie źródła azotu	0,28	10	90
komórki w fazie spoczynkowej	0,65	8	92

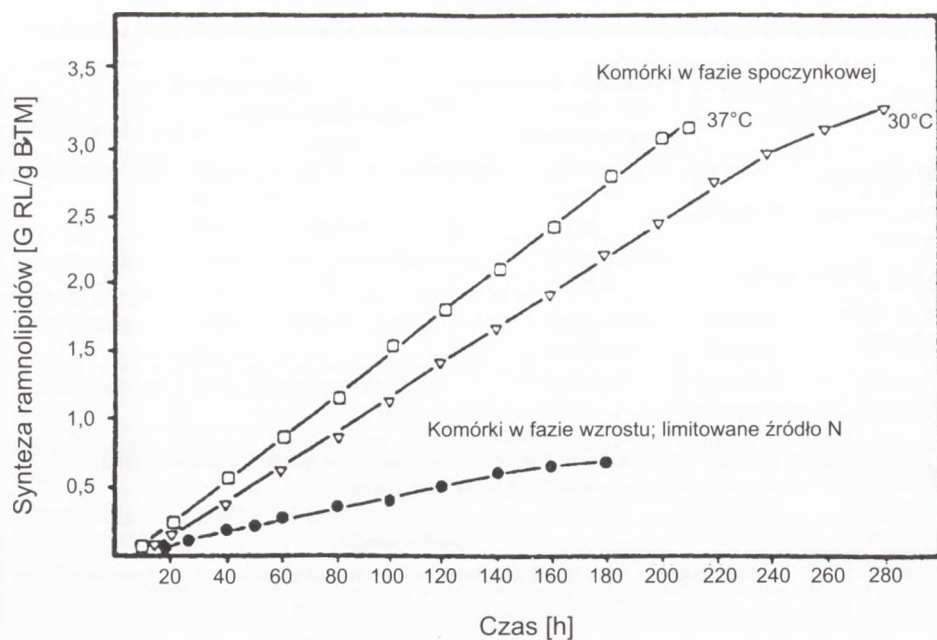
TABELA 3

ZMIANY SKŁADU KWASÓW TŁUSZCZOWYCH TREHALOZOTETRAESTRÓW SYNTETYZOWANYCH PRZEZ
Rhodococcus erythropolis W ZALEŻNOŚCI OD ŹRÓDŁA WĘGLA (7)

Kwas tłuszczowy	Źródło węgla			
	n-undekan	n-oktadekan	n-parafiny*	kerosene**
C7	-	-	3	-
C8	-	-	24	17
C9	18	3	9	2
C10	4	7	59	35
C10 α -metyl	-	-	-	11
C11	72	11	2	6
C12	-	-	-	5
C14	-	22	-	6
C15	-	-	-	3
C16	5	27	-	6
C18	1	30	-	2

* 89% n-tetradekan, 9% n-pentadekan; ** 85% n-parafiny i izoparafiny, 15% składniki aromatyczne.

Rozpatrując mechanizm syntezy trehalozolipidów przez *Rhodococcus erythropolis* można stwierdzić, że rodzaj części cukrowej biosurfaktantów nie jest zależny od substratu węglowego. Część lipofilowa syntetyzowana jest bezpośrednio z węglowodorów poprzez przekształcenia w odpowiednie kwasy tłuszczowe, które po modyfikacji mogą być włączane w strukturę biosurfaktanta. Węgiel węglowodorowych substratów wbudowywany jest w strukturę części węglowodanowej glikolipidów i decyduje o jej lipofilnych lub hydrofilnych właściwościach. Część lipofilna trehalozolipidów może być syntetyzowana ze związków węglowodorowych przede wszystkim, z różnych kwasów tłuszczowych, które po modyfikacji są wbudowywane w glikolipidy. Podobne

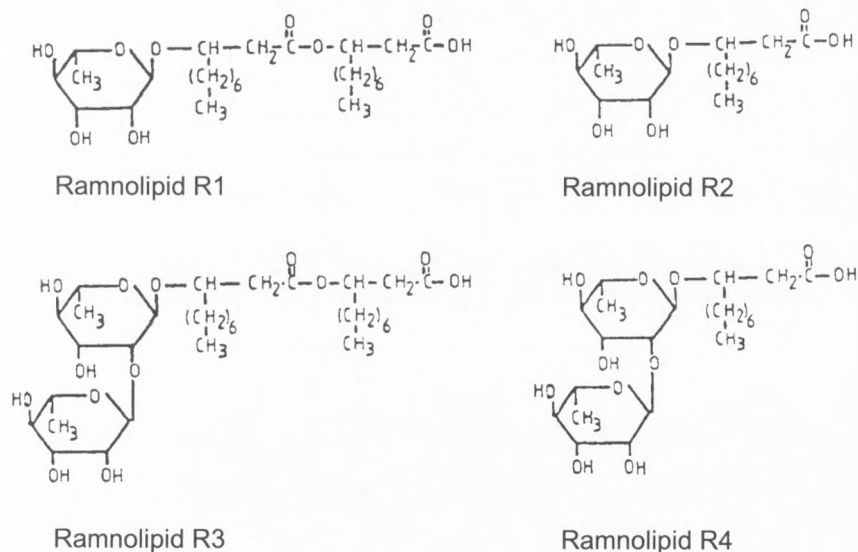


Rys. 1. Synteza ramnolipidów przez komórki *Pseudomonas* sp. DSM 2874 będące w fazie wzrostowej lub spoczynkowej zawieszono w 100 mM chlorku sodu (13).

zależności stwierdzono w mikrobiologicznej biosyntezie mannozyloerytrytololipidów oraz sofrorolipidów przez drobnoustroje w fazie logarytmicznego wzrostu, namnażane w podłożu z węglowodorami (13).

Odmienne zależności stwierdzono w biosyntezie ramnolipidów (13). Różne źródła węgla w postaci związków węglowodorowych, glicerolu lub alkanów o różnej długości łańcucha węglowego nie decydowały o strukturze lipofilnej części biosurfaktantów syntetyzowanych przez *Pseudomonas* sp. Część cukrowa jak i lipofilowa w ramnolipidach jest syntetyzowana *de novo* niezależnie od rodzaju substratu węglowego (14). Podobny mechanizm syntezy biosurfaktantów stwierdzono dla sofrorolipidów syntetyzowanych przez komórki znajdujące się w fazie spoczynkowej i celobiozolipidów syntetyzowanych przez komórki w fazie wzrostu (13).

Ramnolipidy są zewnątrzkomórkowymi metabolitami syntetyzowanymi przez *Pseudomonas* sp. w określonych, dobranych warunkach. Wydajność syntezy ramnolipidów przez *Pseudomonas* sp. wyraźnie zależy od limitowania zawartości źródła azotu oraz jonów Fe, Mg lub Ca w podłożu (13). Na podstawie szczegółowych studiów ustalono zależność, że ramnolipidy najwydajniej są syntetyzowane przez komórki *Pseudomonas* w stanie spoczynku (żywe, ale nie rozwijające się) (14). Porównanie wydajności syntezy ramnolipidów przez rosnące i nierozwijające się komórki *Pseudomonas* sp. DSM 2874 zawieszono

Rys. 2. Budowa ramnolipidów syntetyzowanych przez *Pseudomonas* sp. DSM 2874 (13).

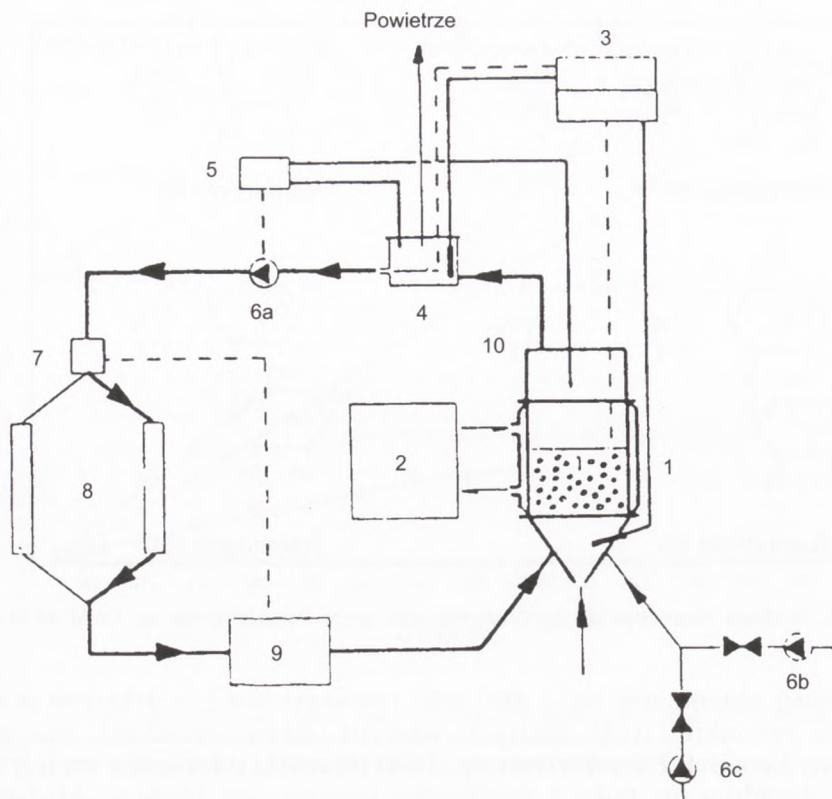
w suspensji składającej się z 100 mM roztworu NaCl, n-alkanów przedstawiono na rysunku 1 (13). Warunki wzrostu mikroorganizmów oraz stan fizjologiczny komórek *Pseudomonas* sp. DSM (komórki rozwijające się lub w spoczynku) decydują nie tylko o wydajności procesu, ale także o składzie i budowie ramnolipidów (rys. 2, tab. 4) (13).

TABELA 4

WPLYW WARUNKÓW ŚRODOWISKA NA WYDAJNOŚĆ SYNTETYZOWANIA RAMNOLIPIDÓW PRZEZ
Pseudomonas sp. DSM 2874 ORAZ NA BUDOWĘ BIOSURFAKTANTA (7)

Warunki syntezy	Wydajność konwersji (g produktu/g substratu)	Udział poszczególnych składników* (%)			
		R-I	R-II	R-III	R-IV
a) komórki w fazie wzrostu					
- bez czynnika limitującego	0,04	50	-	50	-
- limitowanie źródła azotu	0,18	65	-	35	-
b) komórki w fazie stacjonarnej					
- źródło węgla-n-alkany 30°C	0,23	42	15	41	2
- źródło węgla-glicerol 30°C	0,10	22	15	62	1
- źródło węgla-n-alkany 37°C	0,23	57	-	43	-
c) komórki immobilizowane					
- źródło węgla-glicerol, 30°C	0,11	22	15	62	1

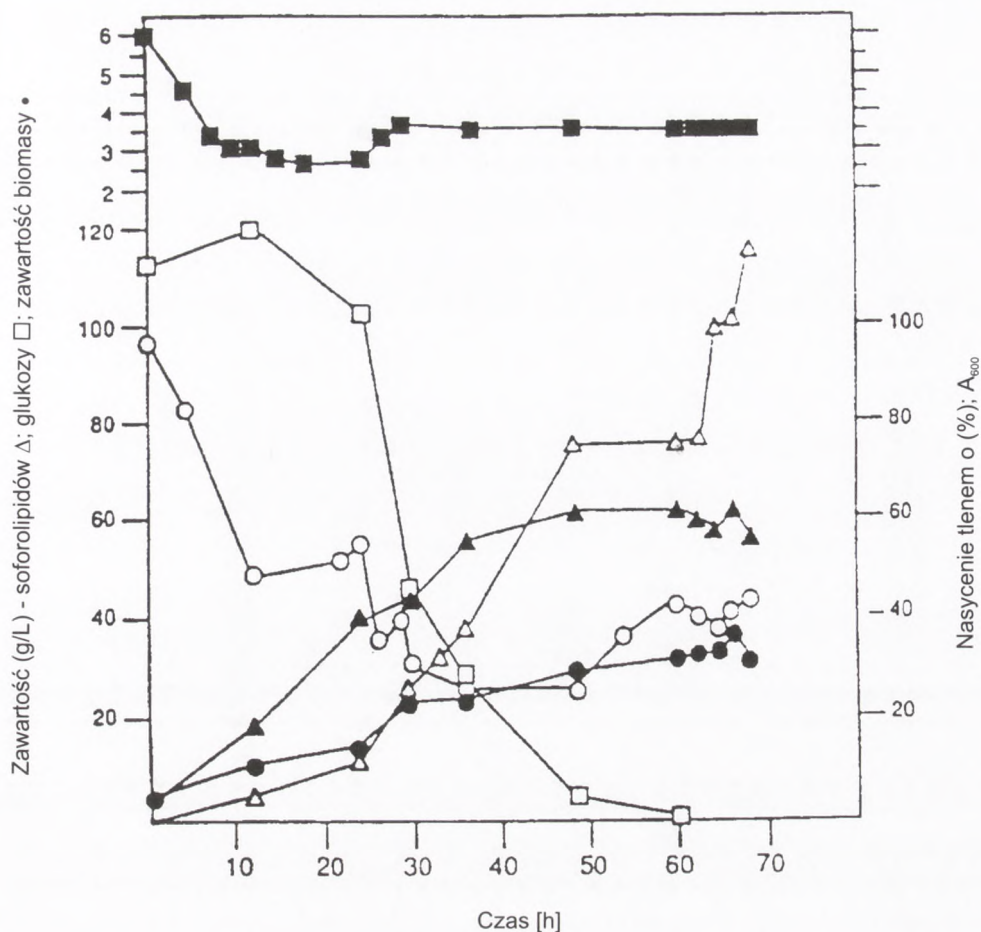
* R-I, R-II, R-III, R-IV — rodzaje ramnolipidów zidentyfikowanych na podstawie analizy chromatograficznej.



Rys. 3. Reaktor fluidyzacyjny do ciągłej syntezy ramnolipidów z ciągłą izolacją biosurfaktantów: 1) reaktor fluidyzacyjny; 2) termostat; 3) kontrola kwasowości; 4) wytrącanie produktu; 5) pomiar konduktancji; 6a,b,c pompy pożywki, substratu oraz biokatalizatora; 7) zawór magnetyczny; 8) kolumna absorpcyjna XAD-2; 9) fotometr; 10) flotacja i odbieranie produktu (13).

Poważnym problemem technologicznym w produkcji zewnątrzkomórkowych biosurfaktantów w warunkach tlenowych (zarówno przez rozwijające się komórki jak i komórki w stanie spoczynku) jest intensywne pienienie się pożywki. Niedogodności te można zminimalizować stosując immobilizowane komórki mikroorganizmów, np. w alginianie wapnia i prowadzenie ciągłej syntezy biosurfaktantów w bioreaktorze ze złożem fluidalnym (13). Technologia przedstawiona schematycznie na rysunku 3 uwzględnia ciągłą izolację ramnolipidów z piany metodą flotacji. Pożywka po wydzieleniu pozostałości biosurfaktantów na kolumnie absorpcyjnej jest zawracana do bioreaktora.

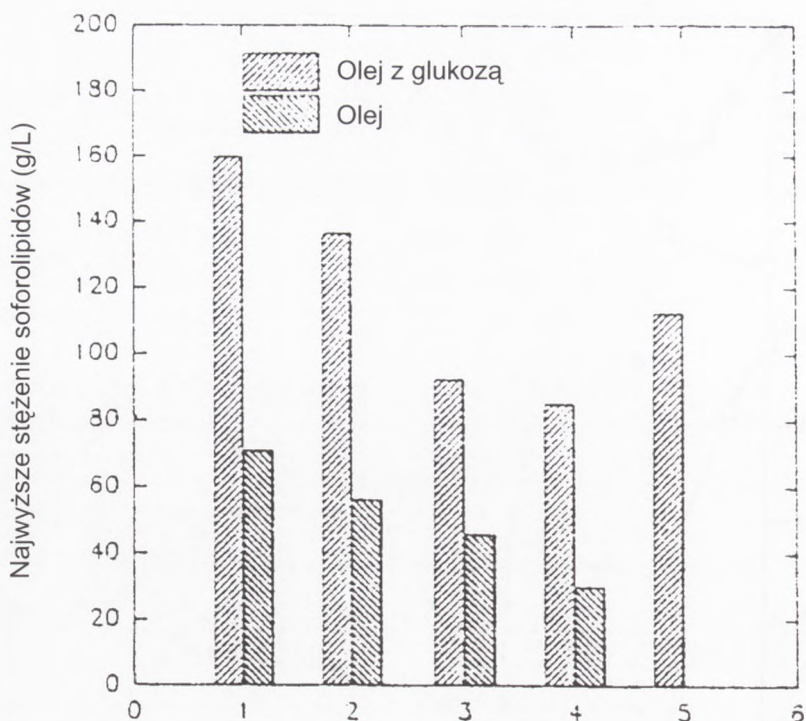
Kolejnym przykładem dobrze poznanej metody otrzymywania biosurfaktantów jest biosynteza soforolipidów przez *Candida bombicola* lub *Candida apicola*. Soforolipidy są zbudowane z soforozy powiązanej wiązaniem glikozydowym z ω - lub ω -1 hydroksykwasami tłuszczowymi (15-22). Otrzymywa-



Rys. 4. Synteza soforolipidów w hodowli *Candida bombicola* w fermentorze w 10 L podłoża z glukozą (10%) oraz odpadowym tłuszczem wieprzowym (10%). Proces prowadzono w warunkach stałego pH 3,4 od 36 godziny hodowli (17).

niem soforolipidów zajmowali się Deshpande i Daniels (17). Autorzy zastosowali w tym celu odpadowe tłuszcze zwierzęce z rzeźni, łój wołowy, które łącznie z 10% dodatkiem glukozy były źródłem węgla w hodowli *Candida bombicola*. Wydajność syntezy soforolipidów przez *Candida bombicola* w warunkach ustalonych przez Deshpande i Danielsa (17) przedstawiono na rysunku 4.

W dążeniu do obniżenia kosztów produkcji soforolipidów autorzy zastosowali tanie podłoża składające się ze wspomnianych odpadów tłuszczowych zwierzęcych, glukozy, namoku kukurydzianego, amoniaku, K_2HPO_4 i NaCl i przeprowadzili szacunkowe obliczenia kosztów produkcji soforolipidów



Rys. 5. Synteza sofrolipidów przez *Candida bombicola* w podłożach z: 1) olejem canola; 2) olejem kartaminowym; 3) olejem słonecznikowym; 4) olejem z oliwek; 5) olejem canola i laktozą (15).

w trzydniowej hodowli *Candida bombicola*. Okazało się, że szacunkowy koszt produkcji 1 kg sofrolipidów wynosi 2,69 USD. Autorzy są przekonani o dalszych możliwościach zmniejszenia kosztów. Wyliczony koszt sofrolipidów nie jest konkurencyjny wobec syntetycznych detergentów, np. siarczanu laurylowego lub sulfonianu alkilobenzenowego, których cena wynosi od 1,44 do 1,80 USD za 1 kg. Cena sofrolipidów może być jednak konkurencyjna wobec surfaktantów stosowanych w przemyśle spożywczym lub kosmetycznym. Ich ceny mieszczą się w granicach 2,00-3,00 USD za kilogram (17).

Korzystną wydajność syntezy sofrolipidów przez *Candida bombicola* uzyskali w swoich badaniach Zhou i Kosaric (15). Prowadząc hodowlę *Candida bombicola* w podłożu z olejami rzepakowym lub słonecznikowym lub olejem z oliwek stwierdzili, że o wydajności syntezy sofrolipidów w sposób istotny decyduje 10% dodatek glukozy do podłoża. Zastąpienie glukozy innym cukrem, np. laktozą niekorzystnie wpływało na wydajność procesu (rys. 5) (15).

Sofrolipidy są także syntetyzowane przez drożdże *Candida apicola*. Ocena ich przydatności do tego celu była przedmiotem badań Hommela i wsp. (16,20,22). Wydajność syntezy biosurfaktantów przez *Candida apicola* IMET 43747 zale-

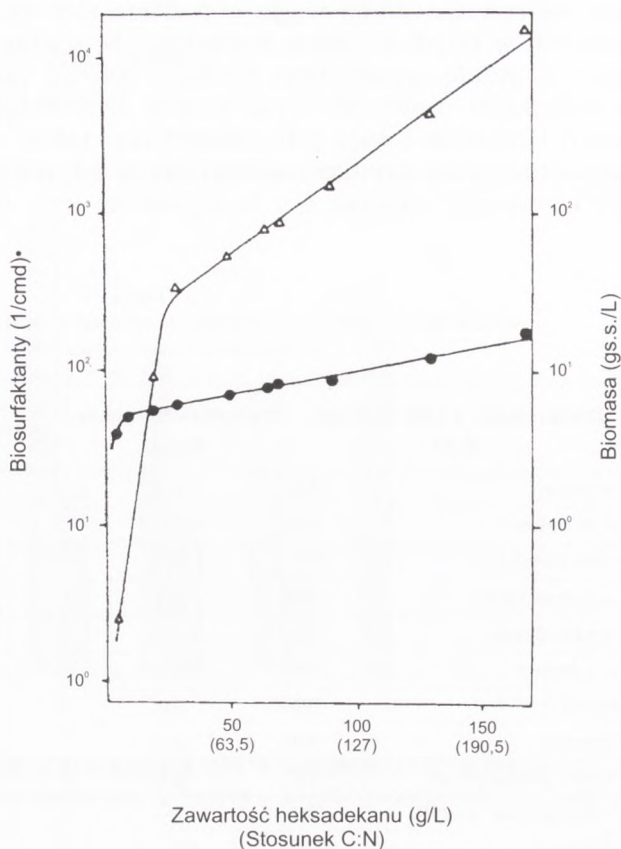
zała od rodzaju źródła węgla w podłożu (16). Na podstawie danych przedstawionych w tabeli 5 można stwierdzić, że wydajność syntezy biosurfaktantów przez *Candida apicola* była wyraźnie wyższa podczas ich hodowli w podłożu z dodatkiem n-alkanów oraz innych hydrofobowych źródeł węgla. W badaniach Hommela i wsp. (16) stwierdzono także, że wydajność syntezy biosurfaktantów przez *Candida apicola* zależy od: początkowego stężenia źródła węgla i proporcji stężenia C : N w podłożu (rys. 6).

TABELA 5
WPLYW ŹRÓDŁA WĘGLA NA SYNTEZĘ I WŁAŚCIWOŚCI BIOSURFAKTANTÓW OTRZYMYWANYCH
W HODOWLI *Torulopsis apicola* IMET 43747 (16)

Źródło węgla i jego stężenie (g/L)	Zawartość biomasy (g/L)	Napięcie powierzchniowe płynu poidlowanego pozbawionego komórek (mN/m)
n-dekan	50	1,9
n-dodekan	50	3,2
n-tetradekan	50	5,3
n-heksadekan	50	9,4
n-oktadekan	50	10,7
n-ejkozan	50	2,7
parex	50	9,0
krezole	50	1,8
kwasy palmitynowy	10	2,0
palmitynian metylu	10	2,1
glukoza	50	25
glukoza	30	-
+ olej słonecznikowy	10	11,8
sacharoza	25	4,1
sacharoza	25	-
+ n-kaksadekan	50	17,5
serwatka		26
glicerol	20	10,5
		30

Źródło węgla w podłożu decyduje także o właściwościach biosurfaktantów syntetyzowanych przez *Candida apicola*. Zależność tę potwierdzono badając zdolność obniżania napięcia powierzchniowego przez biosurfaktanty syntetyzowane przez *Candida apicola* w podłożu z n-heksadekanem lub glukozą jako jedynymi źródłami węgla. Okazało się, że biosurfaktanty syntetyzowane przez *Candida apicola* w pożywce z n-heksadekanem są mieszaniną siedmiu glikolipidów o różnej wartości współczynnika podziału R_f po rozdziale chromatograficznym (16).

Rys. 6. Wpływ stężenia n-heksadekanu oraz C:N w podłożu na wydajność biomasy (●) oraz biosurfaktantów (Δ) syntetyzowanych przez *Torulopsis apicola* IMET 43747 (16).



Biosurfaktanty syntetyzowane przez *Candida apicola* są rozpuszczalne w wodzie i wykazują stabilność właściwości w temperaturach do 100°C. Wysokie stężenie soli w środowisku pogarsza ich zdolności do obniżania napięcia powierzchniowego.

W biotechnologii produkcji glikolipidów ważnym procesem jednostkowym jest ich wydzielenie z pożywki. W zależności od warunków hodowli *Candida apicola* można otrzymać glikolipidy rozpuszczalne w wodzie lub w postaci krystalicznej, co determinuje możliwości ich separacji. Wiadomo, że rozwój *Candida apicola* prowadzi do znacznego zwiększenia kwasowości pożywki (18). Prowadząc hodowlę *Candida apicola* przy kwasowości pożywki poniżej pH 2 otrzymuje się glikolipidy w postaci rozpuszczalnej w wodzie. Po korekcie kwasowości dodatkiem cytrynianu sodu do pH 3 otrzymać można glikolipidy w postaci krystalicznej (tab. 6) (18). W zależności od rodzaju źródła węgla w pożywce i jego koncentracji zawartość krystalicznych glikolipidów mieści się w granicach 5-90 g/l, a najkorzystniejsza wydajność biosyntezy wynosi 0,46 g/lg zużytego substratu. Krystaliczne glikolipidy łatwo można oddzielić od pożywki metodą filtracji.

TABELA 6

SYNTEZA BIOSURFAKTANTÓW PRZEZ *Torulopsis apicola* W POŻYWCIE ZAWIERAJĄCEJ GLUKOZĘ (10%),
HEKSADÉKAN (5%) ORAZ RÓŻNE KONCENTRACJE CYTRYNIANU SODU (18)

Zawartość cytrynianu sodu (g/L)	Końcowa kwasowość płynu hodowlanego (pH)	Napięcie powierzchniowe (mN/m)	Zawartość biosurfaktanta (g/L)
0	1,8	26	–
0,50	1,9	26	–
1,25	2,0	26	ślady
2,50	2,5	25	23,4
5,00	2,9	26	32,4
10,00	3,6	26	25,2

Drożdże *Candida apicola* syntetyzują mieszaninę glikolipidów. W ich składzie stwierdzono obecność jednego głównego (około 80% całości) oraz kilku frakcji glikolipidów występujących w mniejszych ilościach. Oczyszczanie mieszaniny metodą chromatografii cieczowej doprowadziło do wydzielenia głównej frakcji glikolipidów. Charakteryzowała się ona znaczącymi zdolnościami do obniżania napięcia powierzchniowego (10,18). Kontynuacja badań prowadzonych przez Hommela i Huse (21) pozwoliła ustalić, że drożdże *Candida apicola* namnażane w pożywce z glukoza, fruktozą lub sacharozą jako jedyne źródłami węgla syntetyzują znaczące ilości soforolipidów w stacjonarnej fazie swojego rozwoju. Nie stwierdzono syntezy tych związków w hodowlach, gdzie jedynym źródłem węgla w podłożu była galaktoza lub maltoza. W hodowli *Candida apicola* IMET 43747 prowadzonej w pożywce z udziałem cytrynianów i glukozy jako źródłami węgla po 120 godzinach zauważono wydzielanie w pożywce mikrokrystalicznego laktonu soforolipidu (18). Okazało się, że jest on głównie akumulowany w ścianach komórkowych producenta, a tylko niewielka jego część jest wydzielana do pożywki. Stosując technikę NMR wykazano, że laktonosoforolipidy w ścianach komórkowych i pożywce są identyczne. Stosując glukozę z C^{13} poznano mechanizm biokonwersji glukozy do glikolipidów (18). Drożdże prowadzą degradację glukozy do trioz, które w części są substratem do syntezy soforozy, a pozostałe wykorzystywane są w syntezie części lipidowej z udziałem acetylo-CoA, natomiast stosując glukozę jako źródło węgla w połączeniu z heksadékanem, w hodowli *Candida apicola* stwierdzono bezpośrednie jej wbudowywanie (bez degradacji do trioz) do węglowodanowej części soforolipidów. W swoich studiach Hommel i wsp. (23) wykazali także, że rozwój *Candida apicola* i synteza glikolipidów są hamowane przez cerulinę (znany inhibitor biosyntezy kwasów tłuszczowych) co potwierdza, że glukoza jest podstawowym substratem w syntezie soforolipidów bez względu na to czy występuje w podłożu samodzielnie czy z heksadékanem.

Z badań Heinza i wsp. (24) wynika, że w procesach biokonwersji składników podłoża do glikolipidów duże znaczenie mają procesy oksydoredukcyjne. Potwierdzeniem tego jest obecność cytochromu P-450 w komórkach *Can-*

didia apicola prowadzących biokonwersję składników podłoża do glikolipidów. Znaczenie utleniania składników podłoża z udziałem cytochromu P-450 oraz kompleksów enzymów w tym przede wszystkim oksydazy alkoholowej w syntezie soforolipidów przez ten gatunek drożdży przedstawił Hommel (25).

Innym przykładem glikolipidów są mannozyloerytrytolo pochodne lipidowe syntetyzowane przez drożdże z rodzaju *Candida*. Jednak pierwszym poznany mikroorganizmem, który syntetyzował mannozyloerytrytololipidy były grzyby *Ustilago maydis* PRL-627 (26). Obecność tych lipidów stwierdzono jedynie w strukturach komórkowych tego mikroorganizmu.

Synteze zewnątrzkomórkowych mannozyloerytrytolowych pochodnych lipidowych stwierdzono w hodowlach *Candida* sp. B-7 (27). W wyniku działań skринingowych wyizolowany szczep zaklasyfikowano jako *Candida antarctica* T-34. Warunki syntezy mannozyloerytrytololipidów przez ten szczep zostały scharakteryzowane w pracach Kitamoto i wsp. (28,29).

Drożdże w pożywce zawierającej 6% (v/v) oleju sojowego, jedyne źródła węgla, syntezują mieszaninę 4 różnych mannozyloerytrytololipidów spośród których związki oznaczone jako MEL-A i MEL-B zostały po raz pierwszy scharakteryzowane. Kitamoto i wsp. (28) przedstawili, że synteza zewnątrzkomórkowych mannozyloerytrytololipidów może być cechą charakterystyczną dla drożdży z gatunku *Candida antarctica*.

Synteza mannozyloerytrytololipidów prowadzona była przez drożdże w obecności olejów roślinnych natomiast nie zachodziła w obecności glukozy i innych węglowodanów. Wydajność syntezy biosurfaktantów — 34 mg/cm^3 — była najwyższa w pożywce z olejem sojowym. Wzrost stężenia oleju sojowego w pożywce do 8% (v/v) wiązał się z liniowym zwiększeniem wydajności syntezy biosurfaktantów. Dalsze zwiększenie stężenia substratu powodowało tylko nieznaczne zmiany ilości otrzymywanych glikolipidów. Wzbogacenie pożywki 0,1% dodatkiem ekstraktu drożdżowego prowadziło do zwiększenia wydajności syntezy mannozyloerytrytololipidów do 40 mg/cm^3 .

Synteza biosurfaktantów uzależniona była również od temperatury prowadzenia hodowli oraz od warunków natlenienia pożywki będących funkcją stopnia napełnienia kolby pożywką. Wydajność syntezy mannozyloerytrytololipidów w przeliczeniu na olej sojowy w optymalnych warunkach wynosiła 55%.

Wzrost wydajności syntezy biosurfaktantów przez *Candida antarctica* T-34 do 65% uzyskano dzięki wykorzystaniu komórek ze stacjonarnej fazy wzrostu. W tym celu namnożone i wydzielone komórki dodawano do wody destylowanej z 8% (v/v) zawartością oleju sojowego (30).

W dalszych pracach Kitamoto i wsp. (31) badali mechanizm syntezy mannozyloerytrytololipidów. Wykorzystywanie ceruliny antybiotyku hamującego lipogenezę pozwoliło na wysunięcie kilku hipotez o ich syntezie przez drożdże. Po pierwsze stwierdzono, że mechanizm syntezy lipidów wewnątrzkomórkowych w komórkach drożdży *Candida antarctica* i zewnątrzkomórkowych glikolipidów jest odmienny. Synteza lipidów wewnątrzkomórkowych odbywa się na zasadzie bezpośredniego wbudowywania kwasów tłuszczowych w strukturę glikolipidów. Stwierdzono ponadto, że mechanizm syntezy

mannozyloerytrytololipidów zależy od długości łańcucha węglowego kwasów tłuszczowych i tak synteza glikolipidów przebiega drogą *de novo*, gdy źródłem węgla wykorzystywanym przez *Candida antarctica* są krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe (obecność ceruliny hamowała w tych warunkach syntezę glikolipidów). Wówczas gdy w podłożu występowały kwasy tłuszczowe od mirystynowego do oleinowego synteza mannozyloerytrytololipidów nie była hamowana przez cerulinę.

Badania właściwości mannozyloerytrytololipidów syntetyzowanych przez *Candida antarctica* T-34 są zbliżone do właściwości innych biosurfaktantów oraz syntetycznych substancji aktywnych powierzchniowo zawierających głównie kwasy tłuszczowe od C8 do C12 (32). Stwierdzono, że biosurfaktanty te hamują wzrost bakterii gramujemnych, słabo oddziałują na bakterie gramodatnie i są nieaktywne wobec grzybów (6).

Korzystne właściwości mannozyloerytrytololipidów wykorzystuje się w ocenie ich przydatności przede wszystkim w przemyśle spożywczym.

3. Inne mikrobiologiczne biosurfaktanty

Wiadomo, że *Bacillus subtilis* podczas hodowli w podłożu z rozpuszczalnymi w wodzie źródłami węgla syntetyzuje surfaktynę. Obecność w pożywce związków węglowodorowych hamuje syntezę surfaktyny, ale nie wpływa ujemnie na rozwój *Bacillus subtilis* (33-36). Stwierdzono, że synteza surfaktyny rozpoczyna się w logarytmicznej fazie rozwoju bakterii i jest kontynuowana w fazie stacjonarnej. Wydajność syntezy surfaktyny jest odwrotnie proporcjonalna do przyrostu biomasy bakterii.

Znane są przykłady biosurfaktantów mikrobiologicznych podobnych do surfaktyny. Producentem ich zarówno w warunkach tlenowych jak i beztlenowych jest *Bacillus licheniformis* JF-2 (37-39).

Znane są także inne biosurfaktanty mikrobiologiczne, np. ornityna lub lizynolipidy. Ostatnio Busscher i wsp. (40) przedstawili możliwości syntezy biosurfaktantów przez kilka szczepów *Streptococcus thermophilus* wyizolowanych z warstwy odkładającej się na płytach pasteryzatora w sekcji pasteryzacji mleka.

Doskonałe właściwości emulgujące i pianotwórcze stwierdzono w ocenie preparatów otrzymanych z całych komórek *Candida utilis*. W składzie tych biosurfaktantów dominującym komponentem (ponad 50%) są białka (5).

Do ciekawych przykładów substancji emulgujących, prowadzących do tworzenia mikroemulsji węglowodorów i ułatwiających ich wykorzystanie przez mikroorganizmy należą ich zewnątrzkomórkowe struktury membranowe. Tego rodzaju struktury stwierdzono w komórkach *Acinetobacter* sp. HO1-N. Charakteryzują się one średnicą od 20 do 50 nm, a w ich skład wchodzi: białka, fosfolipidy oraz lipopolisacharydy (42). Stwierdzono również, że struktury te w porównaniu do membrany zewnętrznej ochraniającej komórkę zawierają: 5 razy więcej fosfolipidów oraz około 350 razy więcej polisacharydów.

4. Właściwości i kierunki zastosowania biosurfaktantów mikrobiologicznych

Wzrastające zainteresowanie otrzymywaniem biosurfaktantów związane jest z poszukiwaniem alternatywnych związków powierzchniowo aktywnych wobec odpowiedników otrzymanych metodami syntezy chemicznej. Porównanie zdolności obniżania napięcia powierzchniowego oraz międzyfazowego przez biosurfaktanty i odpowiedniki syntetyczne przedstawiono w tabeli 7 (42).

TABELA 7
WŁAŚCIWOŚCI WYBRANYCH ZWIĄZKÓW POWIERZCHNIOWO AKTYWNYCH (43)

Związek powierzchniowo aktywny	Napięcie powierzchniowe (mN/m)	Napięcie międzyfazowe (mN/m)	CMC*
biosurfaktanty			
celobiozolidy	30	>1,0	20,0
ramnolidy	40	1,5	50,0
soforolidy	37	1,5	82,0
trehalozo-dimykołat	30	18,0	0,7
trehalozo-6-mykołat	30	15,0	165,0
hydroksykwasy tłuszczowe	30	15,0	200,0
surfaktyna	27	1,8	25,0
kwas korynomykolowy	30	2,0	150,0
kompleks białkowo-lipidowo-cukrowy	35	15,0	190,0
PE-1006	30	5,6	70,0
ST-5	27	1,8	30,0
AB-2	28	1,5	35,0
surfaktanty			
span-20	32	5,0	10,0
siarczan sodowy dodacylu	30	0,01	2500,0
sulfoniany	30	0,001	nie badano

* CMC (ang. *Critical Micelle Concentration*) krytyczne stężenie miceli, tj. najmniejsza ilość surfaktanta niezbędna do uzyskania najniższej wartości napięcia powierzchniowego.

Łatwo zauważyć, że biosurfaktanty wykazują różne właściwości w zależności od ich pochodzenia i budowy chemicznej. Zdolności obniżania napięcia powierzchniowego wody przez biosurfaktanty i surfaktanty chemiczne są zbliżone. Większe różnice dotyczą napięcia międzyfazowego oraz wartości krytycznego stężenia miceli (CMC — *Critical Micelle Concentration*), tj. najmniejszej ilości surfaktanta niezbędnej do uzyskania najniższej wartości napięcia powierzchniowego (tab. 7).

Główne kierunki stosowania biosurfaktantów związane są z: usuwaniem zanieczyszczeń mórz olejami, ropą naftową, usuwaniem pozostałości olejów ze zbiorników magazynowych, usuwaniem metali z gleby lub wody, usuwaniem zanieczyszczeń olejowych z gleby itp. Z informacji przedstawionych w opracowaniu Banata i wsp. (43) wynika, że biosurfaktant z *Pseudomonas aeruginosa* dodany do mieszaniny heksadekanu, heptadekanu, oktadekanu i nandodekanu po 28 dniach inkubacji w temperaturze 20°C doprowadził do usunięcia w/w węglowodorów odpowiednio w 47, 58, 73 i 60%. Zdolności biosurfaktantów z *Pseudomonas aeruginosa* w odniesieniu do poprawy stopnia biodegradacji tetradekanu, heksadekanu wykazali Jain i wsp. (44).

Predyspozycje biosurfaktantów mikrobiologicznych są wykorzystywane w degradacji składników ropy naftowej z wód morskich skażonych wyciekami z tankowców. Wykazano, że biosurfaktanty syntetyzowane przez drobno-ustroje rozwijające się na pożywce z udziałem benzyny lub olejów zwiększają rozpuszczalność i dostępność tych składników (43,45-52). Zdolność niektórych biosurfaktantów do usuwania frakcji ropy naftowej z gleby przedstawiono w tabeli 8 (42).

TABELA 8
OCENA PRZYDATNOŚCI WYBRANYCH SUBSTANCJI POWIERZCHNIOWO AKTYWNYCH
DO USUWANIA OLEJÓW Z ZIEMI (43)

Związek powierzchniowo aktywny	Napięcie powierzchniowe (mN/m)	Zawartość oleju (%)	Olej odzyskany (%)
0,1% SDS	27,1	35	0,0
1% Spolene	28,0	33	63,0
1% sulfonian	27,5	33	58,0
ST-5	27,6	35	80,0
Pet 1006	29,0	35	95,0
AB-2	293,0	35	95,0

Przedstawione właściwości biosurfaktantów mogą być bardzo przydatne w praktyce do usuwania zanieczyszczeń z gleb skażonych ropą naftową, np. podczas wycieków spowodowanych rozbiciem cystern w czasie jej transportu.

Ważnym kierunkiem zastosowań biosurfaktantów jest ich przydatność w myciu tanków stosowanych do magazynowania ropy naftowej. Właściwości biosurfaktantów mikrobiologicznych w tym zakresie sprawdzono z powodzeniem w Kuwejcie (43).

Ważnym odbiorcą surfaktantów są również przemysł spożywczy i kosmetyczny. Zapotrzebowanie na emulgatory w przemyśle spożywczym zwiększa się od kilku lat. Są one stosowane w produkcji tłuszczów roślinnych, majonezów, sosów, jogurtów, itp. Z oceny właściwości niektórych biosurfaktan-

tów wynika, że oprócz zdolności typowych dla substancji aktywnych powierchniowo wykazują one właściwości antymikrobiologiczne (7).

Z dostępnych informacji literaturowych wiadomo, że soforolipidy SL-1 do 4 syntetyzowane przez *Torulopsis bombicola* ATCL 22214, ramnolipidy RL I do IV syntetyzowane przez *Pseudomonas* sp. DSM, trehalozolipid TL-1 syntetyzowany przez *Rhodococcus erythropolis* wykazują właściwości inhibitujące rozwój bakterii gramodatnich lub gramujemnych. Antymikrobiologiczne oddziaływanie wybranych biosurfaktantów przedstawiono w tabelach 9a i 9b (7). Mechanizm antymikrobiologicznego oddziaływania glikolipidów przedstawić można następująco:

- absorpcja biosurfaktantów na błonach cytoplazmatycznych komórek mikroorganizmów;
- zmniejszenie osmotycznej stabilności komórek;
- aglomeracja białek wewnątrzkomórkowych.

TABELA 9a
WPLYW SOFOROLIPIDÓW NA ROZWÓJ WYBRANYCH MIKROORGANIZMÓW (7)

Mikroorganizmy	Wzrost w obecności 2 mg/cm ³ soforolipidu*			
	SL-1	SL-2	SL-3	SL-4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	+	+	+
<i>Bacillus subtilis</i>	-	-	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-	-	+	+
<i>Streptococcus faecium</i>	-	-	nie badano	+
<i>Propionibacterium acnes</i>	+/-	+/-	nie badano	+
<i>Candida albicans</i>	+	+	+	+
<i>Glomerella cingulata</i>	+	-	+	+

* S-1, S-2, S-3, S-4 — rodzaje soforolipidów zidentyfikowanych na podstawie analizy chromatograficznej.

TABELA 9b
WPLYW RAMNOLIPIDÓW NA ROZWÓJ WYBRANYCH MIKROORGANIZMÓW (7)

Mikroorganizmy	Wzrost w obecności 2 mg/cm ³ ramnolipidu*		
	RL-I/RL-III	RL-II	RL-IV
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	+	+
<i>Bacillus subtilis</i>	-	+	+
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-	+	+
<i>Streptococcus faecium</i>	+/-	+	+
<i>Propionibacterium acnes</i>	-	-	+
<i>Candida albicans</i>	+	+	+
<i>Glomerella cingulata</i>	+	-	+

* R-I, R-II, R-III, R-IV — rodzaje ramnolipidów zidentyfikowanych na podstawie analizy chromatograficznej.

O różnej skuteczności inhibitującego oddziaływania biosurfaktantów wobec bakterii gramodatnich lub gramujemnych decydują różnice w budowie ścian komórkowych ułatwiające lub utrudniające oddziaływanie związków powierzchniowo aktywnych na transport składników pomiędzy komórką a środowiskiem. Wiadomo, że o skuteczności antymikrobiologicznego oddziaływania biosurfaktantów decyduje ich hydrofobowość lub hydrofilność.

Niektóre biosurfaktanty wykazują aktywność antymikrobiologiczną lub hemolityczną (6,7). Na przykład surfaktyna syntetyzowana przez *Bacillus subtilis* hydrolizuje erythrocyty. Właściwości antymikrobiologiczne wykazują także lipopeptydy syntetyzowane przez *Bacillus licheniformis* (38).

Wiedza o właściwościach biosurfaktantów jest niezbędna przed podjęciem decyzji o ich zastosowaniu, np. w produkcji żywności. Odmiennie należy ocenić antymikrobiologiczne właściwości biosurfaktantów stosowanych w produkcji margaryny, majonezu oraz biojogurtu.

5. Podsumowanie

W artykule przedstawiono stan obecny i perspektywy otrzymywania oraz stosowania biosurfaktantów otrzymywanych metodami enzymatycznymi lub jako produkty biosyntezy mikrobiologicznej. W grupie metod enzymatycznych przedstawionych w I części artykułu szczegółowo zaprezentowano możliwości technologiczne otrzymywania monoacylogliceroli oraz ich właściwości emulgujące i kierunki zastosowania.

W II części przedstawiono możliwości mikrobiologicznej syntezy związków powierzchniowo aktywnych. Opisano ich właściwości i perspektywiczną przydatność praktyczną jako zamienników surfaktantów otrzymanych metodami chemicznymi. Porównano perspektywy otrzymywania biosurfaktantów metodami enzymatycznymi i mikrobiologicznymi (tab. 10). Szanse ich produkcji w skali przemysłowej, jak się wydaje, są realne z uwagi na zaangażowanie w tym celu inżynierii genetycznej zmierzającej do doskonalenia cech technologicznych mikroorganizmów producentów biosurfaktantów, jak również z uwagi na znaczący postęp w technice immobilizacji biokatalizatorów sprzyjający obniżaniu kosztów produkcji biosurfaktantów.

TABELA 10
PORÓWNANIE BIOTECHNOLOGICZNYCH METOD OTRZYMYWANIA BIOSURFAKTANTÓW (46)

Wyróżnik	Biosurfaktanty otrzymywane metodą	
	mikrobiologiczną	enzymatyczną
zalety	1) biodegradowalność 2) duża różnorodność 3) niski koszt produkcji 4) możliwość zastosowania <i>in situ</i>	1) biodegradowalność 2) łatwość modyfikacji struktury 3) niski koszt odzysku 4) łatwość w oczyszczaniu
wady	1) wysoki koszt odzysku 2) duża objętość odcieków	1) wysoki koszt enzymów 2) niska rozpuszczalność substratów
perspektywy rozwoju	1) doskonalenie mikroorganizmów 2) immobilizacja komórek mikroorganizmów 3) doskonalenie technologii namnażania mikroorganizmów i wydzielania metabolitów	1) immobilizacja enzymów 2) poprawa aktywności i stabilności enzymów 3) zastosowanie systemów wielofazowych 4) zastosowanie technologii płynów nadkrytycznych

Literatura

- Desai J. D., Banat I. M., (1997), *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 61, 47-64.
- Falbe J., Schmid R. D., (1986), *Fette Seifen Anstrichmittel*, 6, 203-212.
- van Dyke M. I., Lee H., Trevors J. T., (1991), *Biotech. Adv.* 9, 241-252.
- Kosaric N., (1995), *Biosurfactants*, Eds. G. Reed, T. W. Nagodawithana, VCH, Weinheim, 660-717
- Shepherd R., Rockey J., Sutherland I. W., Roller S., (1995), *J. Biotechnol.*, 40, 207-217.
- Kitamoto D., Yanagishita H., Shinbo T., Nakane T., Kamisawa C., Nakahara T., (1993), *J. Biotechnol.*, 29, 91-96.
- Lang S., Katsiwela E., Wagner F., (1989), *Fat. Sci. Technol.*, 91, 363-366.
- Rosenberg E., (1986), *Crit. Rev. Biotechnol.*, 3, 109-132.
- Rosenberg M., Rosenberg E., (1981), *J. Bacteriol.*, 148, 51-57.
- Hommel R. K., (1990), *Biodegradation*, 1, 107-119.
- Cameron D. R., Cooper D. G., Neufeld R. J., (1988), *Appl. Environ. Microbiol.*, 54, 1420-1425.
- Biosurfactants*, (1993), Ed. N. Kosaric, Marcel Dekker, Inc. New York.
- Wagner F., (1987), *Fat. Sci. Technol.*, 586-591.
- Ochsner U. A., Hembach T., Fiechter A., (1995), *Adv. Biochem. Eng./Biotechnol.*, 53, 89-118.
- Zhou Q. H., Kosaric N., (1995), *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 72, 67-71.
- Hommel R., Stuver O., Stuber W., Haferburg D., Kleber H. P., (1987), *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 26, 199-205.
- Deshpande M., Daniels L., (1995), *Bioresource Technol.*, 54, 143-150.
- Stuver O., Hommel R., Haferburg D., Kleber H. P., (1987), *J. Biotechnol.*, 6, 259-269.
- Rau U., Manzke C., Wagner F., (1996), *Biotechnol. Lett.*, 18, 149-154.
- Hommel R. K., Stegner S., Huse K., Kleber H. P., (1994), *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 40, 724-728.
- Hommel R. K., Huse K., (1993), *Biotechnol. Lett.*, 15, 853-858.

22. Hommel R. K., Weber L., Weiss A., Himmelreich U., Rilke O., Kleber H. P., (1994), *J. Biotechnol.*, 33, 147-155.
23. Hommel R., Stegner S., Ziebolz C., Weber L., Kleber H. P., (1990), *Microbios Lett.*, 45, 417-447.
24. Heinz E., Tulloch A. P., Spencer J. F. T., (1970), *Biochim. Biophys. Acta*, 202, 49-55.
25. Hommel R., Ratledge C., (1990), *FEMS Microbiol. Lett.*, 70, 183-186.
26. Fluharty A. L., O'Brien J. S., (1969), *Biochem.*, 8, 2627-2632.
27. Kawashima H., Nakahara T., Oogaki M., Tabuchi T., (1983), *J. Ferment. Technol.*, 61, 143-149.
28. Kitamoto D., Akiba S., Hioki C., Tabuchi T., (1990), *Agric. Biol. Chem.*, 54, 31-36.
29. Kitamoto D., Haneishi K., Nakahara T., Tabuchi T., (1990), *Agric. Biol. Chem.*, 54, 37-40.
30. Kitamoto D., Fuzishiro T., Yanagishita H., Nakane T., Nakahara T., (1992), *Biotechnol. Lett.*, 14, 305-310.
31. Kitamoto D., Yanagishita H., Haraya K., Kitamoto H. K., (1995), *Biotechnol. Lett.*, 17, 25-30.
32. Kitamoto D., Nemoto T., Yanagishita H., Nakane T., Kitamoto H., Nakahara T., (1993), *J. Jpn. Oil Chem. Soc.*, 42, 346-350.
33. Makkar R. S., Cameotra S. S., (1997), *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 18, 37-42.
34. Ullrich C., Kluge B., Palacz Z., Vater J., (1991), *Biochem.*, 30, 6503-6508.
35. Sheppard J. D., Mulligan C. N., (1987), *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 27, 110-116.
36. Kluge B., Vater J., Salnikow J., Eckart K., (1988), *FEBS Lett.*, 231, 107-110.
37. Jenny K., Kappeli O., Fiechter A., (1991), *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 36, 5-13.
38. Lin S. C., Carswell K. S., Sharma M. M., Georgiou G., (1994), *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 41, 281-285.
39. Lin S. C., Sharma M. M., Georgiou G., (1993), *Biotechnol. Prog.*, 9, 138-145.
40. Busscher H. J., Neu T. T., van der Mei H. C., (1994), *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 41, 4-7.
41. Kappeli O., Finnerty W. R., (1979), *J. Bacteriol.*, 140, 707-712.
42. Banat I. M., (1995), *Acta Biotechnol.*, 15, 251-267.
43. Banat I. M., Samarah N., Murad M., Horne R., Banerjee S., (1991), *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 7, 80-88.
44. Jain D. K., Lee H., Trevors T., (1992), *J. Ind. Microbiol.*, 10, 87-93.
45. Lin S. C., (1996), *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, 66, 109-120.
46. Banat I. M., (1995), *Bioresource Technol.*, 51, 1-12.
47. Harvey S., Elashvili I., Valdes J. J., Kamely D., Chakrabarty A. M., (1990), *Bio/Tech-nol.*, 8, 228-230.
48. Zajic J. E., Supplisson B., (1972), *Biotechnol. Bioeng.*, XIV, 331-343.
49. Post F. J., Al-Harjan F. A., (1988), *System. Appl. Microbiol.*, 11, 97-101.
50. Churchill S. A., Griffin R. A., Jones L. P., Churchill P. F., (1995), *J. Environ. Qual.*, 24, 19-28.
51. Chigusa K., Hasegawa T., Yamamoto N., Watanabe Y., (1996), *Wat. Sci. Tech.*, 34, 51-58.
52. Wakelin N. G., Forster C. F., (1997), *Bioresource Technol.*, 59, 37-43.

Biotechnological methods synthesis of biosurfactants. Part II. Synthesis of biosurfactants by microorganisms

Summary

Possibilities of biosurfactants by microorganisms were presented. Examples of microbial biosynthesis of the main groups of biosurfactants were given. Biosurfactants have many potential applications and examples of their utilization were briefly discussed. One of the applications of biosurfactants receiving renewed attention is Microbial Enhanced Oil Recovery (MEOR) and generally use of biosurfactants in pollution removal. Examples of utilization of biosurfactants in

these areas were pointed out. Finally, comparison between biosurfactants synthesised by enzymes and microorganisms was presented.

Key words:

biosurfactants, fungi, microbial synthesis.

Adres do korespondencji:

Włodzimierz Bednarski, Instytut Biotechnologii Żywności, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, ul. J. Heweliusza 1, 10-724 Olsztyn-Kortowo.