

Wojciech Smulek, Ewa Kaczorek

Instytut Technologii i Inżynierii Chemicznej, Politechnika Poznańska

Wykorzystanie surfaktantów naturalnych w biodegradacji oleju napędowego

Zastosowanie surfaktantów w bioremediacji środowiska naturalnego skażonego substancjami ropopochodnymi jest jednym ze sposobów zwiększenia jej efektywności. Celem prowadzonych badań była analiza wpływu stężenia naturalnych surfaktantów: rhamnolipidów i saponin na biodegradację oleju napędowego. Oceniano także modyfikację powierzchni komórek testowanych mikroorganizmów i jej wpływ na biodegradację węglowodorów. Właściwości powierzchniowe określano na podstawie pomiarów hydrofobowości powierzchni komórek i wartości potencjału zeta. Stwierdzono, że testowane surfaktanty zwiększają szybkość rozkładu oleju napędowego przez badane mikroorganizmy: *Microbacterium* sp. i *Achromobacter* sp., przy czym skuteczniejsze w testowanych układach okazało się zastosowanie saponin, surfaktantów pochodzenia roślinnego. Uzyskano pięciokrotny wzrost degradacji oleju napędowego w stosunku do układu bez związku powierzchniowo czynnego. Najwyższej biodegradacji, po wprowadzeniu 120 mg saponin na 1 litr oleju, towarzyszył wzrost hydrofobowości powierzchni komórek i zmniejszenie ładunku powierzchniowego testowanych szczepów.

Słowa kluczowe: biodegradacja, hydrofobowość powierzchni komórki, potencjał zeta, saponiny, związki powierzchniowo czynne.

The use of natural surfactants in the biodegradation of diesel oil

Application of surfactants in the bioremediation of contaminated environment with oil derivatives, is one of the ways to increase its efficiency. The aim of this study was to analyze the effect of the concentration of natural surfactants: rhamnolipids and saponins on the biodegradation of diesel oil. The modification of cell surface was determined on the basis of measurements of cell surface hydrophobicity and values of the zeta potential. It has been found that these surfactants have considerable potential, to increase the rate of oil degradation by microorganisms tested: *Microbacterium* sp. and *Achromobacter* sp. Although the use of saponins, surfactants of vegetable origin turned out to be more effective in tested systems. A 5-fold increase in degradation of the oil in relation to the system without the surfactant was achieved. The highest biodegradation after the addition of 120 mg saponins / l of oil was accompanied by an increase of cell surface hydrophobicity and reduction of the surface charge of the test strains.

Key words: biodegradation, cell surface hydrophobicity, saponins, surface active agents, zeta potential.

Wstęp

Katastrofy ekologiczne z ostatnich lat pokazują, że problem skażenia środowiska naturalnego substancjami ropopochodnymi jest ciągle aktualny i dotyczy całego świata. Niekontrolowane przedostawanie się do środowiska naturalnego produktów naftowych, ze względu na ich toksyczny charakter, negatywnie wpływa na równowagę ekosystemów. Związki te degradują wody gruntowe i powierzchniowe, zanieczyszczają glebę, zaburzają homeostazę, hamują wymianę gazową, ograniczają dostęp światła, jak i zmniejszają

stężenie rozpuszczonego tlenu. Ponadto, ze względu na hydrofobowy charakter, są słabo rozpuszczalne w wodzie i przez to charakteryzują się ograniczoną bioprzyswajalnością przez mikroorganizmy [5, 9]. Biodegradacja węglowodorów zależy od wielu czynników, takich jak: struktura związków węglowodorowych stanowiących zanieczyszczenie, ich rozpuszczalność w wodzie czy też warunki fizykochemiczne środowiska. Pobieranie węglowodorów przez mikroorganizmy i ich wykorzystanie jako źródła węgla i energii jest zazwyczaj

opisywane poprzez trzy mechanizmy [2]. Pierwszy dotyczy związków o stosunkowo dużej rozpuszczalności w wodzie, które są bezpośrednio pobierane z fazy wodnej, drugi opisuje wykorzystanie przez mikroorganizmy węglowodorów z granicy faz ciecz–ciecz, trzeci zaś – węglowodorów zsolubilizowanych [4, 13].

W celu szybkiego usuwania substancji ropopochodnych ze skażonych terenów poszukuje się sposobów, które będą jednocześnie przyjazne środowisku. W ostatnich latach dużą popularnością cieszą się metody polegające na wykorzystaniu w procesach biodegradacyjnych surfaktantów, które charakteryzują się właściwościami amfifilowymi. Związki powierzchniowo czynne dzięki swojej budowie obniżają napięcie powierzchniowe i międzyfazowe cieczy oraz emulgują substancje lipofilowe, powodując zwiększenie powierzchni wymiany i rozpuszczalności [3]. Poza tym surfaktanty mogą istotnie zwiększyć ruchliwość produktów naftowych w środowisku wodno-gruntowym. Mogą one także wpływać na pośrednie produkty biodegradacji [14]. Użycie surfaktantów

podczas bioremediacji gleby wiąże się ze złożonymi oddziaływaniami pomiędzy surfaktantem, glebą, zanieczyszczeniem i mikroorganizmami. W bioremediacji środowiska naturalnego skażonego substancjami ropopochodnymi wykorzystywane są zarówno syntetyczne, jak i naturalne związki powierzchniowo czynne. Surfaktanty naturalne przewyższają swoimi właściwościami surfaktanty syntetyczne. Charakteryzują się niższą toksycznością, lepszą biodegradowalnością i lepszą kompatybilnością ze środowiskiem [1]. W ostatnich latach obok biosurfaktantów wytwarzanych przez mikroorganizmy dużą rolę odgrywają związki powierzchniowo czynne pochodzenia roślinnego – saponiny.

Celem prowadzonych badań była analiza wpływu stężenia naturalnych surfaktantów: ramnolipidów i saponin na biodegradację oleju napędowego. Oceniano także modyfikację powierzchni komórek testowanych mikroorganizmów i jej wpływ na biodegradację. Modyfikację określano na podstawie pomiarów hydrofobowości powierzchni komórek i wartości potencjału zeta.

Metody badań

Mikroorganizmy i biodegradacja węglowodorów

W eksperymentach wykorzystano środowiskowe szczepy bakterii wyizolowane z gleby skażonej ropą naftową – mikroorganizmy z rodzajów *Microbacterium* sp. i *Achromobacter* sp. Szczepy zostały zidentyfikowane za pomocą testów biochemicznych i techniki molekularnej. Biodegradacji poddano olej napędowy, przefiltrowany przez sączek 0,2 μm (Millex, Milipore). Hodowle o objętości 50 ml prowadzono przez 7 dni w temperaturze 30°C w inkubatorze KS 4000 ic control firmy IKA. Zawartość oleju napędowego w hodowli wynosiła początkowo 1% (v/v). Analizowano zarówno biodegradację oleju napędowego przez testowane szczepy, jak również wpływ dodatku surfaktantów naturalnych, saponin i ramnolipidów, na skuteczność jego rozkładu. Saponiny są ekstraktem z rośliny pustynnej *Quillaya bark* (Sigma Aldrich), ramnolipidy – biosurfaktantem produkowanym przez bakterie *Pseudomonas aeruginosa*. W eksperymentach wykorzystano preparat handlowy JBR 425, będący 25-procentowym roztworem ramnolipidów, produkowany przez Jeneil Biosurfactant Company (USA). Do hodowli zostały dodane surfaktanty w ilościach: 6, 60, 120, 240 i 360 mg/l. Stosowano medium hodowlane o następującym składzie (w g/l): 7,0 Na₂HPO₄ · 2 H₂O; 2,8 KH₂PO₄; 1,0 NH₄Cl; 0,5 NaCl; 0,01 MgSO₄ · 7 H₂O; 0,001 FeSO₄ · 7 H₂O; 0,0005 MnSO₄ · 4 H₂O; 0,00064 ZnCl₂; 0,0001 CaCl₂ · 6 H₂O; 0,00006 BaCl₂; 0,000036 CoSO₄ · 7 H₂O; 0,000036 CuSO₄ · 5 H₂O; 0,00065 H₃BO₃; 0,001 EDTA; 0,0146 ml 37-procentowego HCl. Biodegradację węglowo-

dorów wyznaczono na podstawie zmodyfikowanej normy PN-86C-04573/01.

Mikrobiologiczna adhezja mikroorganizmów do węglowodorów

Hydrofobowość powierzchni komórek testowanych mikroorganizmów hodowanych w różnych układach oceniano testem adhezji do heksadekanu (MATH) według metody Rosenberga i in. [11]. Pomiaru hydrofobowości dokonywano w fazie logarytmicznego wzrostu komórek. Hodowlę prowadzono na różnych źródłach węgla: glukozie, bursztynianie sodu, oleju napędowym, heksadekanie, różnych stężeniach testowanych surfaktantów i mieszaninach oleju napędowego z surfaktantem o różnym stężeniu. Do przemywania biomasy wykorzystywano roztwór buforowy PUM (fosforowo-mocznikowo-magnezowy) o pH 7,2 (o składzie [g/l]: 19,7 K₂HPO₄; 7,26 KH₂PO₄; 1,8 H₂NCONH₂ i 0,2 MgSO₄ · 7 H₂O). Gęstość optyczną mierzono przy długości fali 550 nm na spektrofotometrze UV-Vis (Shimadzu). Hydrofobowości wyznaczono z zależności:

$$H = (A_0 - A_1)/A_0 \cdot 100\%$$

gdzie: A_0 – wyjściowa gęstość optyczna, A_1 – gęstość optyczna po wytrząsaniu z heksadekaniem. Wynik każdego z eksperymentów jest średnią z pięciu prób.

Potencjał zeta

Potencjał zeta (potencjał elektrokinetyczny, ładunek powierzchniowy) jest wielkością opisującą różnicę

potencjału między powierzchnią cząstki ciała stałego (lub kropli cieczy w emulsji) a otaczającym je roztworem. Wartość bezwzględna potencjału zeta opisuje skłonność do sedymentacji i agregacji zawieszonych w roztworze cząstek – im ten potencjał jest bliższy zeru, tym mniej stabilna i szybciej sedymentująca jest zawiesina.

W badaniach potencjał zeta obliczono z równania Smoluchowskiego [10], na podstawie pomiarów ruchliwości elektroforetycznej za pomocą aparatu ZetaPlus (Brookhaven

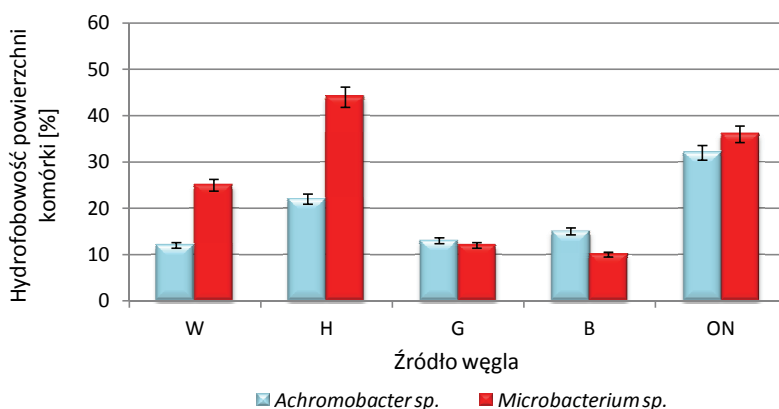
Instruments Co, USA). Hodowle prowadzono na takich samych źródłach węgla jak w pomiarach hydrofobowości powierzchni komórek.

Po określonym czasie hodowli (faza logarytmicznego przyrostu biomasy bakteryjnej) komórki bakteryjne odwirowano i przemyto dwa razy buforem PUM. Następnie bakterie zawieszano w tym samym buforze, uzyskując zawiesinę komórek (o zawartości około 10^8 jtk/ml), w której określano ładunek zgromadzony na ich powierzchni.

Wyniki i dyskusja

Biodegradacja oleju napędowego prowadzona była przez dwa szczepy bakterii wyizolowane ze środowiska naturalnego: *Achromobacter* sp. i *Microbacterium* sp. Pomiar hydrofobowości powierzchni komórek został przeprowadzony na podstawie metody MATH (mikrobiologiczna adhezja do węglowodorów). W metodzie tej przyjmuje się, że większemu stopniowi adhezji komórek do węglowodorów odpowiada większa hydrofobowość powierzchni. Jako powierzchnie hydrofobowe przyjmuje się takie, których wartość przekracza 50%, hydrofilowo-hydrofobowe – gdy wartość ta jest w granicach 30÷50%, a hydrofilowe – w przypadku wartości hydrofobowości poniżej 30%. Testowane szczepy charakteryzowały się właściwościami hydrofilowymi (rysunek 1), przy czym wyjściowa hydrofobowość szczepu *Microbacterium* sp. była wyższa (25%) w stosunku do szczepu *Achromobacter* sp. (12%). Analiza uzyskanych wyników badań wykazała, że hydrofobowość powierzchni komórek jest zależna od

rodzaju źródła węgla zastosowanego w hodowli bakteryjnej. Wzrost cech hydrofobowych zaobserwowano w przypadku wykorzystania hydrofobowych źródeł węgla: heksadekanu i oleju napędowego.

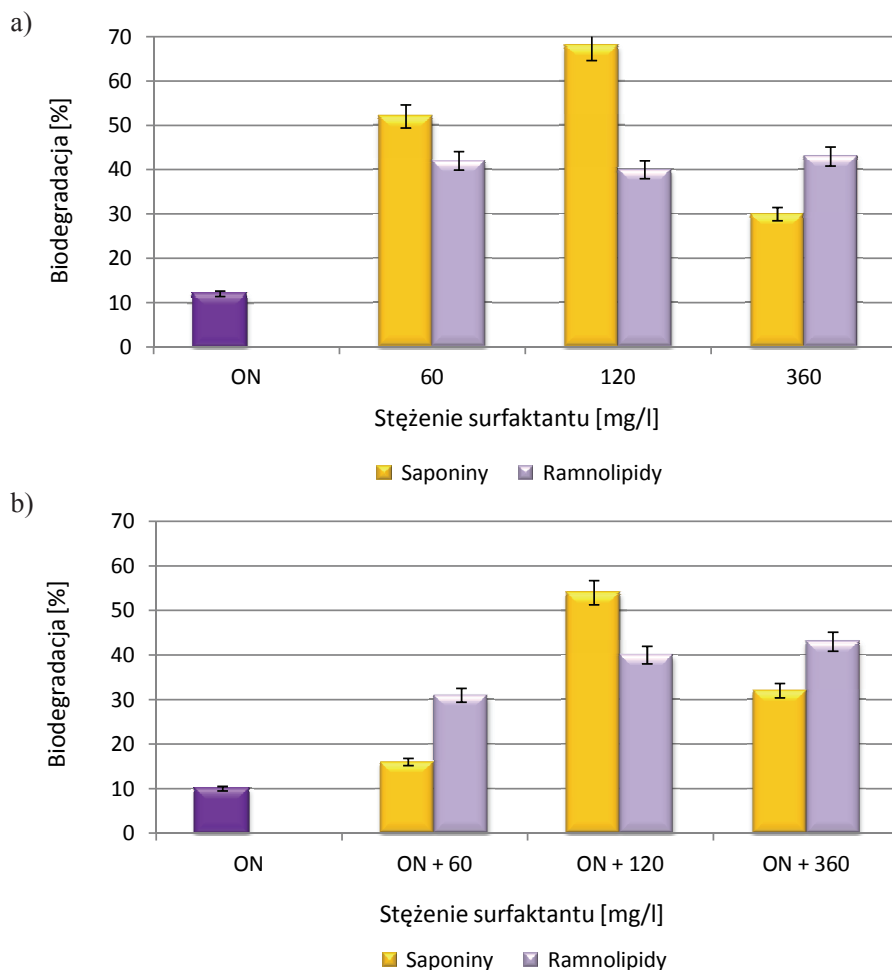


Rys. 1. Hydrofobowości powierzchni komórek szczepów *Achromobacter* sp. i *Microbacterium* sp. po hodowli na różnych rodzajach źródła węgla: W – hydrofobowość wyjściowa, H – heksadekan, G – glukoza, B – bursztynian sodu, ON – olej napędowy

Biodegradacja oleju napędowego

Testowane szczepy środowiskowe po 7 dniach prowadzenia hodowli degradowały olej napędowy na poziomie 10÷12%. Wprowadzenie do układu z *Achromobacter* sp. saponin lub ramnolipidów znacznie przyspiesza biologiczny rozkład oleju napędowego (rysunek 2a). Stopień biologicznego rozkładu przez testowane mikroorganizmy jedynie w przypadku saponin uzależniony jest od stężenia surfaktantu. Najwyższy stopień biodegradacji oleju napędowego osiągnięto przy stężeniu saponin 120 mg/l (68%). Dla ramnolipidów nie zaobserwowano wpływu stężenia tego surfaktantu na biodegradację oleju napędowego (40÷43%). W przypadku szczepu *Microbacterium* sp. odnotowano wpływ stężenia obu surfaktantów na biodegradację oleju napędowego (rysunek 2b). Także i w tym badaniu

wyższą biodegradację uzyskano po wprowadzeniu saponin do układu. Najwyższą wartość biologicznego rozkładu zaobserwowano, gdy do hodowli bakteryjnej wprowadzono 120 mg/l saponin (54%). W przypadku ramnolipidów wraz ze wzrostem ich stężenia nieznacznie zwiększała się biodegradacja oleju napędowego, która dla 360 mg/l wyniosła 43%. Tan i Kong [12] przeprowadzili badania, które wykazały, że dodanie biosurfaktantu przyczynia się do pobudzenia autochtonicznej flory mikroorganizmów, a przez to do zwiększenia szybkości procesu biodegradacji. Dobór odpowiedniego surfaktantu i zastosowanie go w praktyce wymaga poznania złożonych interakcji, jakie występują pomiędzy związkiem powierzchniowo czynnym, powierzchnią komórki danego szczepu a zanieczyszczeniem.



Rys. 2. Wpływ stężenia saponin i ramnolipidów na biodegradację oleju napędowego przez szczep: (a) *Achromobacter* sp., (b) *Microbacterium* sp. Czas trwania procesu: 7 dni

Właściwości powierzchniowe mikroorganizmów w układach z surfaktantami

Wpływ saponin i ramnolipidów na modyfikację powierzchni komórek testowanych szczepów określano poprzez pomiar hydrofobowości powierzchni komórek na podstawie adhezji do węglowodorów oraz poprzez pomiar potencjału zeta.

Hydrofobowość powierzchni komórek

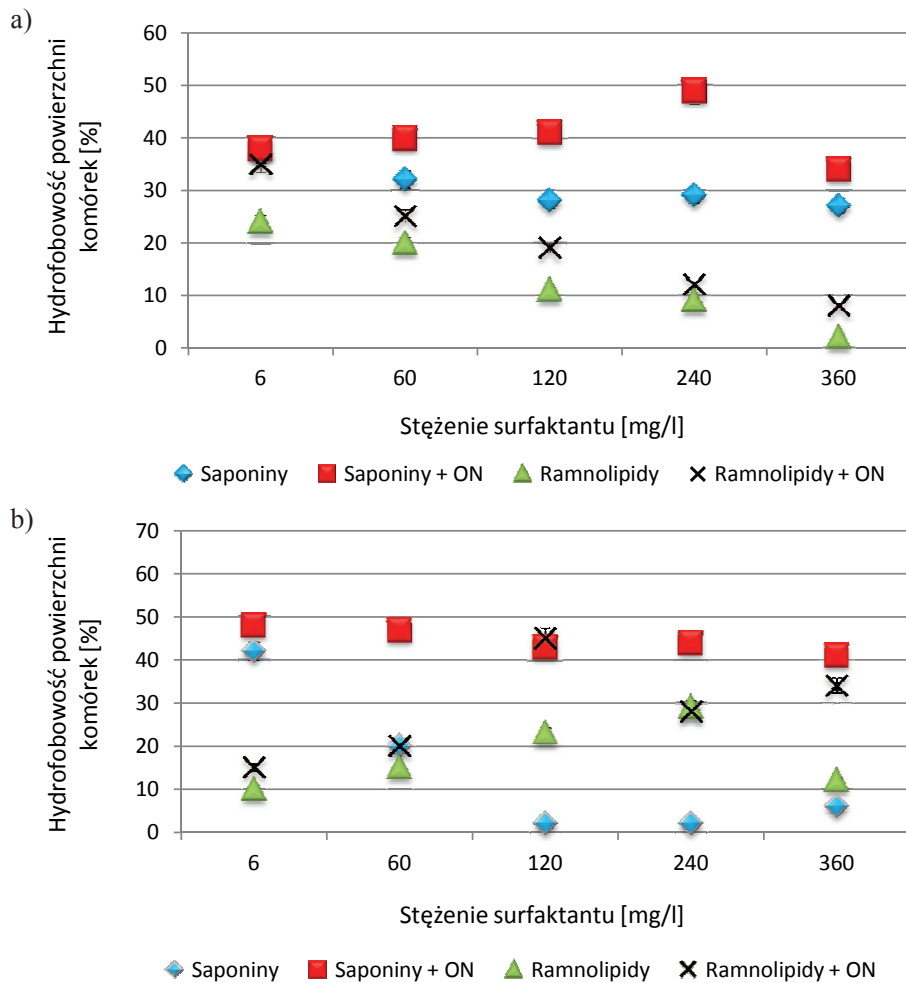
Testowane surfaktanty – saponiny i ramnolipidy w odmienny sposób modyfikują powierzchnię testowanych mikroorganizmów. W przypadku szczepu *Achromobacter* sp. zaobserwowano wraz ze wzrostem stężenia zarówno saponin, jak i ramnolipidów zmniejszenie ilości hydrofobowych komórek (rysunek 3a). Wprowadzenie tych związków powierzchniowo czynnych do układu z olejem napędowym tylko w przypadku użycia saponin spowodowało istotne zmiany w hydrofobowości powierzchni komórek testowanego szczepu. Wraz ze wzrostem stężenia saponin hydrofobowość rosła i przy 240 mg/l wyniosła 49%. W przypadku szczepu *Microbacterium* sp. odnotowano gwałtowny

spadek hydrofobowości po wprowadzeniu saponin (rysunek 3b). Natomiast dodanie ich do układu z olejem napędowym spowodowało wzrost ilości hydrofobowych komórek, która utrzymywała się na porównywalnym poziomie niezależnie od stężenia związku powierzchniowo czynnego. Z kolei wraz ze zwiększeniem stężenia ramnolipidów odnotowano powolny wzrost ilości komórek hydrofobowych. Podobną tendencję zaobserwowano po wprowadzeniu ramnolipidów do układu z olejem napędowym do stężenia 120 mg/l (45%). Zastosowanie większych ilości ramnolipidów spowodowało zmniejszenie ilości hydrofobowych komórek w układzie. Zhong i in. [15, 16] wskazują, że adsorpcja ramnolipidów powoduje zmianę hydrofilowych właściwości powierzchni komórek, która może prowadzić do skuteczniejszej mineralizacji węglowodorów. Wpływ surfaktantów na właściwości powierzchniowe zależy zarówno od ich rodzaju, jak i od mikroorganizmów, na które oddziałują [6].

Potencjał zeta

Wyższym ładunkiem powierzchniowym w testowanych układach charakteryzował się szczep *Achromobacter* sp. (tablica 1). Analizując wpływ ilości wprowadzonych do układów surfaktantów na ładunek powierzchniowy testowanych szczepów podczas biodegradacji oleju napędowego, istotne różnice zaobserwowano tylko w przypadku szczepu *Microbacterium* sp., i to w układzie z ramnolipidami. Wraz ze wzrostem stężenia odnotowano obniżenie wartości potencjału zeta, zwiększała się więc również stabilność układu, a komórki bakteryjne miały mniejszą skłonność do sedymentacji i agregacji. W rezultacie możliwa była intensywniejsza wymiana składników pokarmowych i biodegradowalnych związków między biomasą bakteryjną a roztworem hodowlanym.

Analizując właściwości powierzchniowe i biodegradację oleju napędowego przez testowane szczepy, zaobserwowano odmienny wpływ tego samego surfaktantu na komórki bakteryjne. W przypadku saponin, dla obu szczepów, najwyższą biodegradację oleju napędowego uzyskano, wprowadzając do układu 120 mg/l surfaktantu. Szczepy te charakteryzowały się właściwościami hydrofilowo-hydrofobowymi, jednakże ich ładunek powierzchniowy był odmienny. Wyższy ładunek



Rys. 3. Wpływ stężenia saponin i ramnolipidów na hydrofobowość powierzchni komórek: (a) *Achromobacter sp.*, (b) *Microbacterium sp.*

Tablica 1. Wpływ stężenia saponin i ramnolipidów dodanych do układu z olejem napędowym na potencjał zeta szczepów *Achromobacter sp.* i *Microbacterium sp.*

Stężenie ramnolipidów [mg/l]	Potencjał zeta [mV]	
	<i>Achromobacter sp.</i>	<i>Microbacterium sp.</i>
6	-12,2 ± 0,02	-9,1 ± 0,09
60	-10,4 ± 0,01	-14,3 ± 0,06
120	-11,5 ± 0,07	-16,1 ± 0,06
240	-10,4 ± 0,08	-25,5 ± 0,07
360	-11,3 ± 0,05	-27,3 ± 0,08
Stężenie saponin [mg/l]	<i>Achromobacter sp.</i>	<i>Microbacterium sp.</i>
6	-12,9 ± 0,10	-18,9 ± 0,09
60	-15,6 ± 0,08	-20,6 ± 0,08
120	-16,0 ± 0,06	-21,4 ± 0,05
240	-15,2 ± 0,10	-22,3 ± 0,08
360	-15,6 ± 0,03	-22,4 ± 0,06
Źródło węgla	<i>Achromobacter sp.</i>	<i>Microbacterium sp.</i>
Glukoza	-10,6 ± 0,10	-20,2 ± 0,06
Bursztynian sodu	-10,6 ± 0,08	-21,7 ± 0,08
Heksadekan	-13,1 ± 0,07	-18,6 ± 0,07
Olej napędowy	-13,3 ± 0,12	-15,1 ± 0,09

powierzchniowy miał szczep *Achromobacter sp.* (-16 mV), natomiast wartość ta w przypadku *Microbacterium sp.* wynosiła -21,4 mV. Stosując ramnolipidy, zaobserwowano, że dla szczepu *Achromobacter sp.* zmianom hydrofobowości powierzchni komórek wraz ze wzrostem stężenia surfaktantu nie towarzyszyły zmiany w skuteczności biodegradacji, która niezależnie od ilości stosowanego surfaktantu utrzymywała się na podobnym poziomie. Z kolei w przypadku szczepu *Microbacterium sp.* wzrostowi biodegradacji wraz ze zwiększoną ilością zastosowanych ramnolipidów towarzyszyło zmniejszenie ładunku powierzchniowego. Ładunek na powierzchni komórki jest wynikiem oddziaływań grup funkcyjnych, regulowanych metabolicznie, obecnych na jej powierzchni [8]. Liu i in. [7] zaobserwowali zmianę ładunku powierzchniowego szczepu *Penicillium simplicissimum* pod wpływem saponin.

Wnioski

Testowane związki powierzchniowo czynne posiadają znaczny potencjał aplikacyjny. Ponadto ich biodegradowalność i kompatybilność ze środowiskiem powodują, że są one dobrym narzędziem z ekologicznego punktu widzenia. Zastosowanie zarówno biosurfaktantów, jak i surfaktantów pochodzenia roślinnego wpływa korzystnie na biodegradację oleju napędowego, powodując jej

zwiększenie. Saponiny, surfaktanty pochodzenia roślinnego, zwiększają biodegradację oleju napędowego efektywniej niż ramnolipidy.

Najwyższej biodegradacji (wzrost pięciokrotny), po wprowadzeniu 120 mg/l saponin, towarzyszył wzrost hydrofobowości powierzchni komórek i zmniejszenie ładunku powierzchniowego testowanych szczepów.

Projekt został sfinansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki przyznanych na podstawie decyzji numer DEC-2012/07/B/NZ9/00950.

Prosimy cytować jako: Nafta-Gaz 2015, nr 2, s. 104–109

Artykuł nadesłano do Redakcji 23.09.2014 r. Zatwierdzono do druku 24.11.2014 r.

Literatura

- [1] Banat I. M., Franzetti A., Gandolfi I., Bestetti G., Martinotti M. G., Fracchia L., Smyth T. J., Marchant R.: *Microbial biosurfactants production, applications and future potential*. Applied Microbiology and Biotechnology 2010, vol. 87, issue 2, pp. 427–444.
- [2] Bury S. J., Miller C. A.: *Effect of micellar solubilization on biodegradation rates of hydrocarbons*. Environmental Science and Technology 1993, vol. 27, issue 1, pp. 104–110.
- [3] Cameotra S. S., Bollag J. M.: *Biosurfactant-enhanced bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons*. Critical Reviews in Environmental Science and Technology 2003, vol. 33, issue 2, pp. 111–126.
- [4] Goswami P. C., Singh H. D., Bhagat S. D., Baruah J. N.: *Mode of uptake of insoluble solid substrates by microorganisms. I: Sterol uptake by an Arthrobacter species*. Biotechnology and Bioengineering 1983, vol. 25, issue 12, pp. 2929–2943.
- [5] Leahy J. G., Colwell R. R.: *Microbial degradation of hydrocarbons in the environment*. Microbiological Review 1990, vol. 54, issue 3, pp. 305–315.
- [6] Liu Z., Zeng Z., Zeng G., Li J., Zhong H., Yuan X., Liu Y., Zhang J., Chen M., Liu Y., Xie G.: *Influence of rhamnolipids and Triton X-100 on adsorption of phenol by Penicillium simplicissimum*. Bioresource Technology 2012, vol. 110, pp. 468–473.
- [7] Liu Z.-F., Zeng G.-M., Wang J., Zhong H., Ding Y., Yuan X.-Z.: *Effects of monorhamnolipid and Tween 80 on the degradation of phenol by Candida tropicalis*. Process Biochemistry 2010, vol. 45, issue 5, pp. 805–809.
- [8] Martienssen M., Reichel O., Kohlweyer U.: *Surface properties of bacteria from different wastewater treatment plants*. Acta Biotechnologica 2001, vol. 21, issue 3, pp. 207–225.
- [9] Megharaj M., Ramakrishnan B., Venkateswarlu K., Sethunathan N., Naidu R.: *Bioremediation approaches for organic pollutants: A critical perspective*. Environment International 2011, vol. 37, issue 8, pp. 1362–1375.
- [10] Miyake Y., Tsunoda T., Minagi S., Akagawa Y., Tsuru H., Suginaka H.: *Antifungal drugs affect adherence of Candida albicans to acrylic surfaces by changing the zeta-potential of fungal cells*. FEMS Microbiology Letters 1990, vol. 69, pp. 211–214.
- [11] Rosenberg M., Gutnick D., Rosenberg E.: *Adherence of bacteria to hydrocarbons: A simple method for measuring cell-surface hydrophobicity*. FEMS Microbiology Letters 1980, vol. 9, issue 1, pp. 29–33.
- [12] Tan H. M., Kong C. J.: *Biosurfactants and their roles in bioremediation*. Environmental Biotechnology 2000, vol. 5, issue 3, s. 185–193.
- [13] Volkering F., Breure A. M., Rulkens W. H.: *Microbiological aspects of surfactant use for biological soil remediation*. Biodegradation 1998, vol. 8, issue 6, pp. 401–417.
- [14] Zamorska J., Papciak D.: *Usuwanie związków ropopochodnych z gruntu – mikroorganizmy i warunki prowadzenia procesu*. Zeszyty Naukowe Politechniki Rzeszowskiej 2004, nr 218, s. 159–170.
- [15] Zhong H., Zeng G. M., Liu J. X., Xu X. M., Yuan X. Z., Fu H. Y., Huang G. H., Liu Z. F., Ding Y.: *Adsorption of monorhamnolipid and dirhamnolipid on two Pseudomonas aeruginosa strains and the effect on cell surface hydrophobicity*. Applied Microbiology and Biotechnology 2008, vol. 79, issue 4, pp. 671–677.
- [16] Zhong H., Zeng G. M., Yuan X. Z., Fu H. Y., Huang G. H., Ren F. Y.: *Adsorption of dirhamnolipid on four microorganisms and the effect on cell surface hydrophobicity*. Applied Microbiology and Biotechnology 2007, vol. 77, issue 2, pp. 447–455.



Mgr inż. Wojciech SMULEK
Doktorant w Instytucie Technologii i Inżynierii
Chemicznej Politechniki Poznańskiej.
ul. Berdychowo 4
60-995 Poznań
E-mail: wojciech.smulek@doctorate.put.poznan.pl



Dr hab. inż. Ewa KACZOREK
Adiunkt w Instytucie Technologii i Inżynierii
Chemicznej Politechniki Poznańskiej.
ul. Berdychowo 4
60-995 Poznań
E-mail: ewa.kaczorek@put.poznan.pl