

Ewelina Dziegielewska, Marek Adamczak

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
e-mail: marek.adamczak@uwm.edu.pl

ZASTOSOWANIE PRODUKTÓW UBOCZNYCH I ODPADÓW W SYNTEZIE SOFOROLIPIDÓW PRZEZ *CANDIDA BOMBICOLA*

Streszczenie: Celem pracy była ocena syntezy biosurfaktantów przez drożdże *Candida bombicola* w podłożach zawierających glukozę i wybrane produkty uboczne i/lub odpady przemysłu spożywczego i oleochemicznego. Synteza biosurfaktantów była większa gdy w podłożu znajdowała się glukoza i hydrofobowe źródło węgla, a zadowalające wyniki uzyskano, gdy do podłoża YPG dodano sopstok. Po 7 dniach hodowli, gdy początkowe stężenie sopstoku wynosiło 20 lub 30% (v/v) uzyskano, odpowiednio 98,50 lub 99,91 g/L biosurfaktantów. Nie uzyskano większego stężenia biomasy i soforolipidów, gdy sopstok dodawano do podłoża hodowlanego po 24-godzinnym namnożeniu biomasy drożdży w podłożu jedynie z glukozą, bez odpadu. Otrzymano od 12,70 do 14,70 g/L biosurfaktantów, gdy do podłoża hodowlanego z glukozą dodawano frakcję glicerolową zawierająca 1,45-1,63% substancji lipidowych oraz od 62,40 do 70,10% wolnego glicerolu.

Słowa kluczowe: biosurfaktanty, *Candida bombicola*, glikolipidy, soforolipidy, sopstok.

1. Wstęp

Soforolipidy to zewnątrzkomórkowe biosurfaktanty, glikolipidy syntetyzowane głównie przez drożdże *Candida bombicola*, *Candida apicola*, *Candida bogoriensis* [Felse i in. 2007; Van Bogaert i in. 2011a], a także przez zidentyfikowane niedawno: *Candida kuoi* sp. nov. [Kurtzman 2012], *Candida* sp. NRRL Y-27208 [Price i in. 2012]. Głównym soforolipidem syntetyzowanym przez większość wymienionych drobnoustrojów jest 6',6''-dioctan 1,4''-laktanu kwasu 17-L-([2'-O-β-D-glukopiranozylo-1''-β-D-glukopiranozylo]-oksy)-oktadekanowego. Część hydrofobowa soforolipidów zbudowana jest z długołańcuchowych hydroksykwasów tłuszczowych o 16-18 atomach węgla, połączonych wiązaniem β-glikozydowym, z hydrofilową soforozą. Soforolipidy syntetyzowane przez *Rhodotorula bogoriensis* zawierają kwas dokozanowy (C22) [Zhang i in. 2011]. Soforolipidy występują w dwóch formach: laktonowej i kwasowej z wolną grupą karboksylową. Biosurfaktanty laktonowe, w porównaniu z soforolipidami kwasowymi, efektywniej ob-

nizają wartość współczynnika napięcia powierzchniowego, a najmniejszą wartość uzyskano, gdy 72% stanowiły laktonowe soforolipidy, co wskazuje na korzystne synergistyczne ich działanie na powierzchni międzyfazowej [Van Bogaert i in. 2007; Hirata i in. 2009a].

Soforolipidy zmniejszają wartość współczynnika napięcia powierzchniowego wody z około 72 mN/m (24-25 °C) do 30-40 mN/m, a krytyczne stężenie micelizacji (CMC) wynosi 40-100 mg/L [Develter, Laurysen 2010]. Wartość CMC dla soforolipidów jest o prawie dwa rzędy wielkości mniejsza niż dla związków aktywnych powierzchniowo otrzymywanych metodami chemicznymi. Są one stabilne w szerokim zakresie wartości temperatury (20-90°C), w środowisku o dużym stężeniu soli oraz wartości pH do 7-7,5. Właściwości soforolipidów i ich pochodnych decydują o możliwości ich aplikacji w: przemyśle farmaceutycznym, medycynie, np. spermicyd przeciwdziałła wstrząsowi septycznemu, ochronie środowiska, produkcji detergentów i środków czystości oraz w przemyśle chemicznym [Bednarski, Adamczak 2008; Daniel i in. 1998]. Ze względu na małą cytotoksyczność w stosunku do komórek ludzkich wykorzystywane są do produkcji kosmetyków [Hirata i in. 2009b]. Usuwiają zewnętrzną warstwę naskórka oraz uczestniczą w procesie gojenia się ran, a także pobudzają metabolizm fibroblastów skóry, hamują działanie wolnych rodników oraz elastaz [Van Bogaert i in. 2011b]. Soforolipidy mogą być także substratem w reakcjach enzymatycznych, np. w polimeryzacji lub laktonizacji do makrocyclicznych estrów, które mają zastosowanie w przemyśle perfumeryjnym [Van Bogaert i in. 2007]. Chen i in. [2006] wykazali, że główny składnik soforolipidów syntetyzowanych przez *Wickerhamiella domercqiae* wykazuje właściwości przeciwnowotworowe. Warunki syntezy soforolipidów, ich budowa chemiczna, determinują ich właściwości antydrobnoustrojowe, głównie względem bakterii Gram-dodatnich [Shah i in. 2007]. W testach klinicznych wykazano jednak stosunkowo małą wartość ich aktywności antydrobnoustrojowej [Sleiman i in. 2009].

Substratem do syntezy biosurfaktantów mogą być różne związki chemiczne o właściwościach hydrofilowych, hydrofobowych lub ich mieszanina [Daverey, Pakshirajan 2010; Makkar i in. 2011]. Synteza soforolipidów prowadzona jest w łagodnych warunkach środowiska i możliwe jest otrzymanie nawet ponad 400 g soforolipidów z litra podłoża, ze średnią szybkością objętościową syntezy wynoszącą 3,18 g/L×h [Rau i in. 2001]. Duża wydajność bioprodukcji spowodowała, że soforolipidy są alternatywą dla związków aktywnych powierzchniowo uzyskiwanych z ropy naftowej. Budowa ich grupy hydrofobowej zależy od rodzaju substratu, a fragment hydrofilowy syntezowany jest w sposób niezależny od stosowanych źródeł węgla [Bednarski, Adamczak 2008]. Podczas ich syntezy istotne znaczenie mają warunki ich mikrobiologicznej syntezy, skład pożywki, stosunek ilościowy źródła węgla do azotu, a ze względów ekonomicznych – dobór tanich źródeł węgla, m.in. produktów ubocznych i odpadów.

Celem pracy była ocena syntezy biosurfaktantów przez drożdże *Candida bombicola* w podłożach zawierających glukozę i wybrane produkty uboczne, i/lub odpady przemysłu spożywczego i oleochemicznego.

2. Materiały i metody

Inokulum *Candida bombicola* ATCC 22214 (klasyfikowana również jako *Starmerella bombicola*) przygotowano w 100 ml pożywki YPG (2% (w/v) glukozy, 1% (w/v) ekstraktu drożdżowego, 2% (w/v) peptonu mięsnego) w kolbach stożkowych o pojemności 500 ml. Do pożywki dodawano biomasę drożdży z podłoża agarowego i prowadzono hodowlę przez 24 godziny w wytrząsarce G-25 (New Brunswick) w temperaturze 30°C przy szybkości wytrząsania 300 obr./min.

Syntezę soforolipidów prowadzono w 100 ml podłoża YPG z dodatkiem wybranych odpadów lub produktów ubocznych (tab. 1), po dodaniu 10% (v/v) inokulum. Ich stężenie w podłożu zostało ustalone na podstawie wcześniejszych doświadczeń, polegających na określeniu maksymalnej ilości dodawanych odpadów do podłoża zapewniającej syntezę biosurfaktantów i wydajny wzrost biomasy (dane niepublikowane). W trakcie hodowli oznaczano: kwasowość czynną (pH), wartość współczynnika napięcia powierzchniowego płynu pochodowlanego (γ , mN/m) metodą pierścieniową przy użyciu tensjometru K-9 (Krüss), stężenie biomasy (Y, g s.m./L) oraz stężenie surowego ekstraktu biosurfaktantów (B, g/L) metodą ekstrakcji z octanem etylu (1:1, v/v) [Adamczak, Bednarski 2000; Bednarski i in. 2004].

Skład kwasów tłuszczowych w stosowanych odpadach określono za pomocą chromatografii gazowej. Metylację kwasów tłuszczowych prowadzono zgodnie z procedurą zmodyfikowanej metody Peiskera [Żegarska i in. 1991]. Próby do analizy chromatograficznej rozcieńczano *n*-heptanem i dodawano kwas pentadekanowy jako wzorzec wewnętrzny. Kwasy tłuszczowe identyfikowano na podstawie czasów retencji uzyskanych dla wzorca mieszaniny kwasów tłuszczowych (Matreya LLC). Analizę wykonano z użyciem chromatografu gazowego Clarus 600 (Perkin Elmer) z kolumną Supelcowax 10 (30m×0,32mm×0,25 μ m), z użyciem detektora FID. Temperatury dozwornika, kolumny oraz detektora wynosiły odpowiednio: 250°C, 195°C, 250°C, a jako gaz nośny stosowano hel o natężeniu przepływu 1,6 ml/min. Próbkę nanoszono do kolumny przy podziale strumienia wynoszącym 50:1. Analizę uzyskanych chromatogramów prowadzono z użyciem programu komputerowego TotalChrom (PerkinElmer).

Zawartość wolnego glicerolu we frakcjach glicerolowych oznaczano metodą enzymatyczną z użyciem zestawu firmy Sigma-Aldrich (Poznań), a zawartość tłuszczu we wszystkich odpadach i produktach ubocznych – metodą ekstrakcji według Flocha i in. [1957].

W kolejnym etapie doświadczeń analizowano kinetykę syntezy biosurfaktantów podczas hodowli 10-dniowej w podłożu YPG lub YPG z 20% dodatkiem sopstoku, pobierając próbki co 24 godziny i wykonując analizy jak wyżej.

Określano także wpływ wielkości dodatku sopstoku, tj. 5, 10 lub 30% (v/v), do podłoża YPG na efektywność syntezy związków powierzchniowo czynnych. Oceniano wpływ dodatku hydrofobowego źródła węgla na syntezę biosurfaktantów, po

wstępnym 24-godzinnym namnożeniu biomasy w podłożu zawierającym jedynie glukozę.

Wszystkie doświadczenia wykonano w co najmniej dwóch niezależnych powtórzeniach, a odchylenie standardowe uzyskanych wyników nie przekraczało 7%.

3. Omówienie i dyskusja wyników

W doświadczeniach zastosowano tanie, łatwo dostępne surowce odpadowe i produkty uboczne. Frakcje glicerolowe zawierały 1,45-1,63% lipidów oraz od 62,4 do 70,1% wolnego glicerolu. Największą zawartością lipidów charakteryzował się sopstok (79,85%), a pozostałe produkty zawierały od 52,71 do 71,85% lipidów. Podczas pierwszego etapu doświadczeń spośród dostępnych odpadów i produktów ubocznych (tab. 1) wybrano te, które intensyfikują syntezę soforolipidów przez drożdże

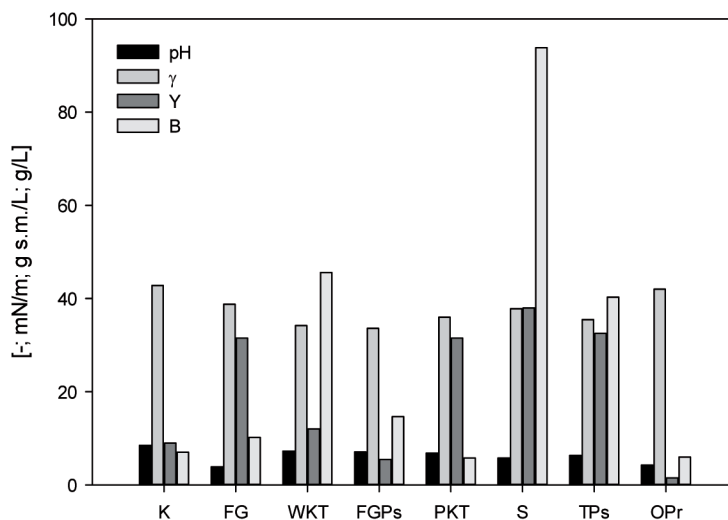
Tabela 1. Charakterystyka składu kwasów tłuszczowych odpadów i produktów ubocznych stosowanych w doświadczeniu

Rodzaj składnika dodanego do podłoża YPG	Stężenie składnika w podłożu [% v/v]	Udział kwasów tłuszczowych [%]								
		C14	C 16	C 16:1	C 18	C18:1	C18:2	C18:3	C20	C21
Frakcja glicerolowa (FG)	10	0	5,23	0	1,64	68,30	18,00	6,83	0	0
Wolne kwasy tłuszczowe (WKT)	20	0	5,33	0	1,77	65,43	17,90	7,87	ślad	1,26
Frakcja glicerolowa po produkcji biodiesla z oleju słonecznikowego (FGPs)	10	0	5,50	0	1,95	61,04	23,32	6,81	ślad	1,03
Porafinacyjne kwasy tłuszczowe (PKT)	20	0	3,36	0	1,20	66,67	18,24	8,55	ślad	1,59
Sopstok (S)	20	10,44	6,63	11,53	3,80	67,22	8,41	5,29	3,60	4,95
Odpadowy tłuszcz posmażalniczy (TPs)	10	1,30	1,56	0	41,61	4,22	45,16	5,78	ślad	ślad
Odpad porafinacyjny (OPr)	20	0	10,28	ślad	2,80	59,70	19,60	3,26	5,65	1,14

Źródło: opracowanie własne.

C. bombicola. Po 168 godzinach hodowli w podłożu YPG wzbogaconym 20% dodatkiem sopstoku uzyskano zawartość surowego ekstraktu biosurfaktantów wynoszącą 98,5 g/L (rys. 1). Dużą ilość syntetyzowanych soforolipidów uzyskano także w podłożu z dodatkiem 20% odpadowych wolnych kwasów tłuszczowych (45,6 g/L) oraz z dodatkiem 10% odpadowego tłuszczu posmażalnicy (40,3 g/L). Stwierdzono jednocześnie brak korelacji pomiędzy stężeniem biomasy i soforolipidów w podłożu hodowlanym. Zawartość biomasy w podłożach z dodatkiem sopstoku lub tłuszczu posmażalnicy wynosiła odpowiednio 38 i 32,5 g/L, a w podłożu z odpadowymi kwasami tłuszczowymi jedynie 12 g/L (rys. 1).

Przy założeniu 100% wykorzystania dodanych odpadów wydajność syntezy soforolipidów w warunkach doświadczenia wynosiła dla sopstoku, odpadowych wolnych kwasów tłuszczowych i odpadowego tłuszczu posmażalnicy, odpowiednio 0,49; 0,23 i 0,4 g biosurfaktantów/g substratu. Jednocześnie w doświadczeniach stosowano 2-3-krotnie większe stężenie tłuszczu w podłożu niż w większości doświadczeń opisywanych w literaturze [Bednarski i in. 2004; Shah i wsp. 2007].



Rys. 1. Wpływ rodzaju odpadu lub produktu ubocznego na syntezę biosurfaktantów przez *Candida bombicola*

Źródło: opracowanie własne.

O wydajności syntezy soforolipidów decyduje długość łańcucha węglowego oraz stopień nasycenia wiązań w kwasach tłuszczowych. Największy wpływ na intensyfikację syntezy biosurfaktantów mają kwasy stearynowy lub oleinowy, podczas gdy kwasy tłuszczowe polienowe i zawierające mniej niż 16 lub więcej niż 20 atomów węgla powodują zmniejszenie wydajności bioprocessu [Brakemeier i in. 1995]. Śred-

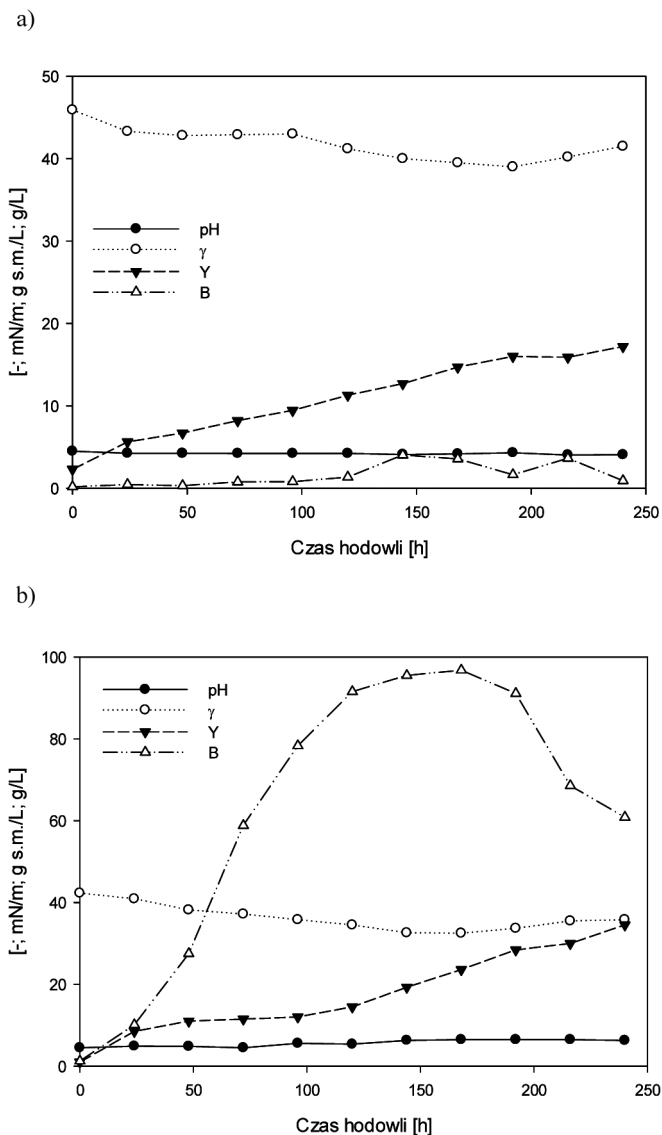
nio- i długołańcuchowe kwasy tłuszczowe od 10 do 14 atomów węgla są transformowane przez drożdże *de novo* do kwasów tłuszczowych C16 lub C18 [Felse i in. 2007]. Z tego względu sopstok, zawierający kwasy C16 i C18, był dobrym źródłem kwasów tłuszczowych do syntezy soforolipidów przez *C. bombicola*. Na podstawie przeprowadzonych doświadczeń można również stwierdzić, że na syntezę biosurfaktantów korzystnie wpływała większa ogólna zawartość lipidów w stosowanych surowcach odpadowych i produktach ubocznych (tab. 1, rys. 1).

Glicerol jest tanim produktem ubocznym, powstającym podczas produkcji estrów metylowych kwasów tłuszczowych (biodiesel), dostępnym w dużych ilościach. Problem zagospodarowania nadwyżki glicerolu, a właściwie tzw. frakcji glicerolowej, w skład której wchodzi – oprócz glicerolu (70-90%) – woda (10-30%), acyloglicerole, metanol, może być rozwiązywany metodami biotechnologicznymi. Glicerol dość powszechnie wykorzystują drobnoustroje, a powstający w końcowym etapie jego metabolizmu fosforan-3-gliceroaldehydu jest przekształcany do pirogronianu (glikoliza) lub glukozy (glukoneogeneza). W wyniku przeprowadzonych doświadczeń uzyskano od 12,7 do 14,7 g/L biosurfaktantów, gdy do podłoża hodowlanego z glukozą dodawano frakcję glicerolową. Ashby i Solaiman [2010] zwracają uwagę na możliwy niekorzystny wpływ metanolu obecnego we frakcji glicerolowej na syntezę soforolipidów. Przy stężeniu metanolu wynoszącym 1,5% synteza soforolipidów była mniejsza o ponad 50% w stosunku do podłoża bez metanolu.

Podczas kolejnego etapu doświadczeń analizowano syntezę soforolipidów w hodowli 10-dniowej w podłożu jedynie z glukozą (YPG) oraz w podłożu z dodatkiem 2% (w/v) glukozy i 20% sopstoku (rys. 2a i b). Potwierdzono, że o dużej wydajności syntezy związków powierzchniowo czynnych decyduje obecność zarówno hydrofobowego, jak i hydrofilowego źródła węgla [Van Bogaert i in. 2007]. Po hodowli *C. bombicola* w podłożu z glukozą stężenie biosurfaktantów po 144 godzinach hodowli wynosiło 4,03 g/L (rys. 2a), a po dodaniu 20% sopstoku ich stężenia zwiększyły się ponad 20-krotnie do 96,80 g/L (rys. 2b).

Ze względu na korzystną kompozycję kwasów tłuszczowych Felse i in. [2007] uzyskali 120 g/L soforolipidów w hodowli *C. bombicola*, gdy do podłoża dodawano łój wołowy. Drożdże te wydajnie syntetyzowały soforolipidy w podłożu z dodatkiem kondensatu podezodoracyjnego (ogólna zawartość substancji tłuszczowych 99,7% (w/w)). Najkorzystniejsze stężenie biosurfaktantów, wynoszące 118 g/L, uzyskano, stosując podłoże, w którym na 1g kondensatu przypadały 3 g glukozy, 0,05 g ekstraktu drożdżowego [Gumienna i in. 2002a]. Z kolei podczas doświadczeń realizowanych przez ten sam zespół zawartość soforolipidów wynosiła 80 g/L, gdy drożdże *C. bombicola* namnażano w podłożu zawierającym glukozę i kwas oleinowy [Gumienna i in. 2002b].

W prowadzonych doświadczeniach zaobserwowano zmniejszenie stężenia syntetyzowanych biosurfaktantów po 8-9 dobach hodowli (rys. 2b). Tego rodzaju zmiany zawartości biosurfaktantów obserwowane są, gdy w podłożu brakuje wystarczających ilości hydrofilowego i/lub hydrofobowego źródła węgla, a drobnoustroje wykorzystują w tym celu biosurfaktanty.



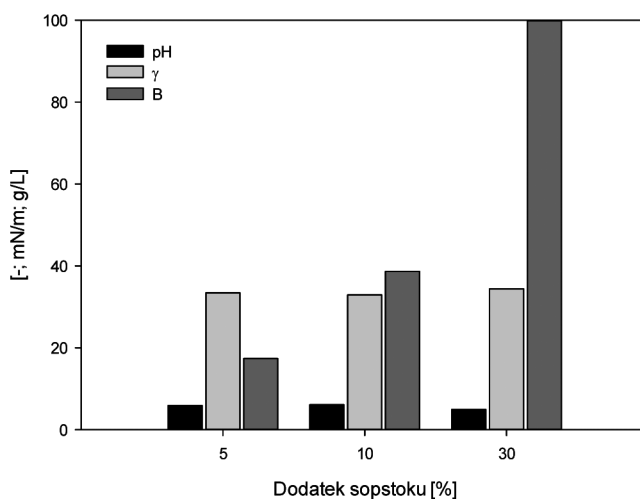
Rys. 2. Kinetyka syntezy biosurfaktantów przez drożdże *Candida bombicola* w podłożu (a) YPG (2% glukozy) i (b) YPG z 20% (v/v) dodatkiem sopsotoku

Źródło: opracowanie własne

W hodowli drożdży, w której jedynym źródłem węgla była glukoza, wartość współczynnika napięcia powierzchniowego płynu hodowlanego zmniejszyła się do 39 mN/m (rys. 2a). W czasie hodowli drożdży w podłożach z dodatkiem sopsotoku

zaobserwowano zmniejszenie wartości współczynnika napięcia powierzchniowego płynu hodowlanego z 42,3 mN/m do 32,5 mN/m (rys. 2b). Najniższą wartość współczynnika napięcia powierzchniowego uzyskano po 168 godzinach hodowli, gdy otrzymano największą ilość soforolipidów (96,80 g/L) (rys. 2b).

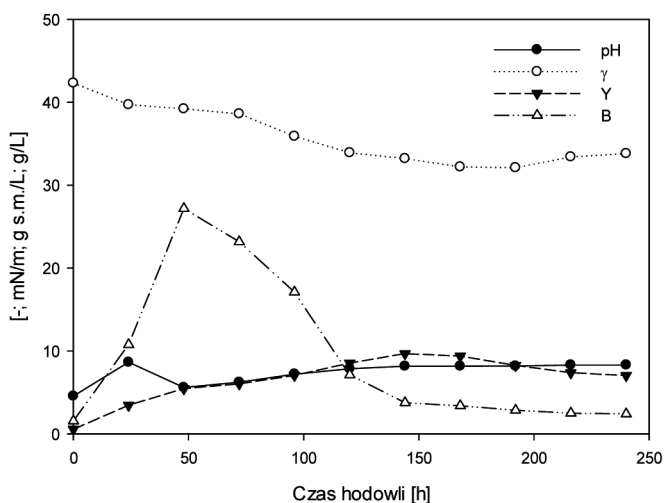
Podczas hodowli drożdży w podłożu zawierającym tylko hydrofilowe źródło węgla wartość pH wynosiła 4,05-4,5 (rys. 2a). Zaobserwowano, że intensywne syntezę soforolipidów zachodzi, gdy wartość pH płynu hodowlanego zwiększa się z 4,5 do 6,5 (rys. 2b). Zmiany te związane są prawdopodobnie z konwersją wolnych kwasów tłuszczowych obecnych w podłożu do soforolipidów [Adamczak, Bednarski 2000].



Rys. 3. Wpływ wielkości dodatku sopstoku na syntezę biosurfaktantów przez drożdże *Candida bombicola*

Źródło: opracowanie własne.

Podczas prowadzonych doświadczeń analizowano także wpływ ilości sopstoku (5 do 30% (v/v)) dodawanego do podłoża z glukozą, na syntezę związków powierzchniowo czynnych (rys. 1 i 3). Przy 5% dodatku sopstoku stężenie biosurfaktantów po 7 dniach hodowli wynosiło 17,38 g/L. Po zwiększeniu ilości sopstoku do 10 i 20% drożdże syntetyzowały odpowiednio 38,67 g/L i 96,8 g/L soforolipidów (rys. 1 i 3). Wykazano, że zwiększenie ilości hydrofobowego źródła węgla korzystnie wpływa na syntezę biosurfaktantów, jednak zwiększenie jego dodatku do 30% (v/v) umożliwiło tylko nieznaczne zwiększenie stężenia zewnątrzkomórkowych biosurfaktantów do 99,91 g/L (rys. 3). Niezależnie od wielkości dodatku sopstoku końcowa wartość współczynnika napięcia powierzchniowego płynu hodowlanego była taka sama i wynosiła od 32,5 do 34,4 mN/m.



Rys. 4. Wpływ dodatku sopstoku po namnożeniu biomasy drożdży *Candida bombicola* w podłożu YPG na wydajność syntezy biosurfaktantów (strzałką oznaczono czas, w którym dodano sopstok)

Źródło: opracowanie własne

Dodatek hydrofobowego źródła węgla po wstępnym, 24-godzinnym, namnożeniu biomasy *C. bombicola* w podłożu YPG bez dodatku odpadu nie wpłynął korzystnie na syntezę soforolipidów przez badane drożdże (rys. 4). Po dodaniu sopstoku stężenie biosurfaktantów zwiększyło się z 1,54 g/L do 10,76 g/L, a maksymalne stężenie soforolipidów, wynoszące 27,17 g/L, uzyskano w trzecim dniu hodowli. W kolejnych dniach stężenie soforolipidów w podłożu hodowlanym zmniejszało się i ostatniego dnia wynosiło zaledwie 2,41 g/L (rys. 4). Wpływ czasu i wielkości dodatku oleju rzepakowego na syntezę soforolipidów przez *Rhodotorula bogoriensis* analizowali Zhang i in. [2011]. Nie osiągnięto planowanego zwiększenia syntezy biosurfaktantów, a przypuszcza się, że do efektywnej syntezy soforolipidów konieczny jest odpowiedni czas inkubacji, niezbędny do hydrolizy substratów i uwolnienia wolnych kwasów tłuszczowych. Stąd konieczność dodawania zestyfikowanych kwasów tłuszczowych już na początku hodowli. Podczas hodowli zaobserwowano zmniejszenie wartości współczynnika napięcia powierzchniowego płynu hodowlanego z 42,3 mN/m do 32,1 mN/m (rys. 4). Obniżenie wartości współczynnika napięcia powierzchniowego, mimo małej ilości syntetyzowanych soforolipidów przez *C. bombicola*, wskazuje, iż o wartości tego parametru decydują, ilość i właściwości syntetyzowanych biosurfaktantów, tj. wartość CMC, wtórne metabolity syntetyzowane przez mikroorganizmy oraz zmieniające się proporcje składników podłoża [Adamczak, Bednarski 2000].

4. Podsumowanie

Produkty uboczne i odpady przemysłowe są źródłem związków odżywczych, które mogą być wykorzystywane przez mikroorganizmy do syntezy wielu bioproduktów, w tym biosurfaktantów. Zastosowanie produktów ubocznych i odpadów jako komponentów podłoży hodowlanych pozwala na eliminację uciążliwych substancji ze środowiska, a jednocześnie zmniejsza koszty syntezy biosurfaktantów.

W ramach przeprowadzonych doświadczeń wykazano możliwość zastosowania odpadowych kwasów tłuszczowych, tłuszczu posmażalniczego oraz sopstoku do syntezy soforolipidów. Wskazano także na możliwość zastosowania odpadowej frakcji glicerolowej do ich syntezy. Mieszanina hydrofilowych i hydrofobowych substratów odpadowych może być tanim i efektywnie wykorzystywanym substratem do syntezy biosurfaktantów.

Literatura

- Adamczak M., Bednarski W., *Influence of medium composition and aeration on the synthesis of biosurfactants produced by Candida antarctica*, Biotechnology Letters 2000, 22, s. 313-316.
- Ashby R., Solaiman D., *The influence of increasing media methanol concentration on sophorolipid biosynthesis from glycerol-based feedstocks*, Biotechnology Letters 2010, 32, s. 1429-1437.
- Bednarski W., Adamczak M., Tomasik J., Płaszczek M., *Application of oil refinery waste in the biosynthesis of glycolipids by yeast*, Bioresource Technology 2004, 95, s. 15-18.
- Bednarski W., Adamczak M., *Otrzymywanie, właściwości i zastosowanie biosurfaktantów*, [w:] *Na pograniczu chemii i biologii*, red. H. Koroniak, J. Barciszewski, t. 20, Wydawnictwo Naukowe UAM, Poznań 2008, s. 451-472.
- Brakemeier A., Lang S., Wullbrandt A., Merschel A., Benninghoven A., Buschmann N., *Novel sophorose lipids from microbial conversion of 2-alkanols*, Biotechnology Letters 1995, 17, s. 1183-1188.
- Chen J., Song X., Zhang H., Qu Y., *Production, structure elucidation and anticancer properties of sophorolipid from Wickerhamiella domercqiae*, Enzyme and Microbial Technology 2006, 39, s. 501-506.
- Daniel H.-J., Reuss M., Syldatk C., *Production of sophorolipids from whey: Development of a two-stage process with Cryptococcus curvatus ATCC 20509 and Candida bombicola ATCC 22214 using deproteinized whey concentrates as substrates*, Biotechnology Letters 1998, 20, s. 1153-1156.
- Daverey A., Pakshirajan K., *Sophorolipids from Candida bombicola using mixed hydrophilic substrates: Production, purification and characterization*, Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 2010, 79, s. 246-253.
- Develter D.W.G., Laurysen L.M.L., *Properties and industrial applications of sophorolipids*, European Journal of Lipid Science and Technology 2010, 112, s. 628-638.
- Felse P., Shah V., Chan J., Rao K., Gross R., *Sophorolipid biosynthesis by Candida bombicola from industrial fatty acid residues*, Enzyme and Microbial Technology 2007, 40, s. 316-323.
- Fleurackers S., *On the use of waste frying oil in the synthesis of sophorolipids*, European Journal of Lipid Science and Technology 2006, 108, s. 5-12.
- Floch J., Lees M., Sloane S.G.H., *A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues*, Journal of Biological Chemistry 1957, 226, s. 497-509.

- Gumienna M., Czarnecka M., Czarnecki Z., *Kondensat podezodoryzacyjny jako substrat tłuszczowy w biosyntezie związków powierzchniowo czynnych z wykorzystaniem drożdży Candida bombicola*, Technologia Alimentaria 2002a, 1(2), s. 71-82.
- Gumienna M., Lasik M., Roszyk H., Czarnecki Z., *Kwas oleinowy źródłem węgla o właściwościach hydrofobowych w biosyntezie związków powierzchniowo czynnych przez szczep Candida bombicola*, Żywność, Nauka, Technologia, Jakość 2002b, 2(31), s. 43-53.
- Hirata Y., Ryu M., Igarashi K., Nagatsuka A., Furuta T., Kanaya S., Sugiura M., *Natural synergism of acid and lactone type mixed sophorolipids in interfacial activities and cytotoxicities*, Journal of Oleo Science 2009a, 58, s. 565-572.
- Hirata Y., Ryu M., Oda Y., Igarashi K., Nagatsuka A., Furuta T., Sugiura M., *Novel characteristics of sophorolipids, yeast glycolipid biosurfactants, as biodegradable low-foaming surfactants*, Journal of Bioscience and Bioengineering 2009b, 108, s.142-146.
- Kurtzman C.P., *Candida kuoi sp. nov., a new anamorphic species of the Starmerella yeast clade that synthesizes sophorolipids*, International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2012, w druku.
- Makkar R., Cameotra S., Banat I., *Advances in utilization of renewable substrates for biosurfactant production*, AMB Express 2011, 1(5).
- Price N.P.J., Ray K.J., Vermillion K.E., Dunlap C.A., Kurtzman C.P., *Structural characterization of novel sophorolipid biosurfactants from a newly identified species of Candida yeast*, Carbohydrate Research 2012, 348, s. 33-41.
- Rau U., Hammen S., Heckmann R., Wray V., Lang S., *Sophorolipids: A source for novel compounds*, Industrial Crops and Products 2001, 13, s. 85-92.
- Shah V., Badia D., Ratsep P., *Sophorolipids having enhanced antibacterial activity*, Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2007, 51, s. 397-400.
- Sleiman J.N., Kohlhoff S.A., Roblin P.M., Wallner S.R., Gross R., Hammerschlag M.R., Zenilman M.E., Bluth M.H., *Sophorolipids as antibacterial agents*, Annals of Clinical and Laboratory Science 2009, 39, s. 60-63.
- Van Bogaert I.N.A., Saerens K., De Muynck C., Develter D., Soetaert W., Vandamme E.J., *Microbial production and application of sophorolipids*, Applied Microbiology and Biotechnology 2007, 76, s. 23-34.
- Van Bogaert I.N.A., Zhang J., Soetaert W., *Microbial synthesis of sophorolipids*, Process Biochemistry 2011a, 46, s. 821-833.
- Van Bogaert I.N.A., Soetaert W., *Sophorolipids*, [w:] *Biosurfactants*, red. Soberon-Chavez G., Microbiology Monographs 2011b, 20.
- Zhang J., Saerens K., Van Bogaert I.N.A., Soetaert W., *Vegetable oil enhances sophorolipid production by Rhodotorula bogoriensis*, Biotechnology Letters 2011, 33, s. 2417-2423.
- Żegarska Z., Jaworski J., Borejszo Z., *Ocena zmodyfikowanej metody Peiskera otrzymywania estrów metylowych kwasów tłuszczowych*, Acta Academiae Agriculturae ac Technicae Olstenensis 1991, 24, s. 25-33.

THE APPLICATION OF BY-PRODUCTS AND WASTE FOR SYNTHESIS OF SOPHOROLIPIDS BY *CANDIDA BOMBICOLA*

Summary: The aim of the study was to assess the possibilities of the synthesis of biosurfactants by the yeast *Candida bombicola* in a medium containing glucose and selected food and/or oleochemical industry waste and by-products. The highest yield of biosurfactants was obtained in a medium containing glucose and hydrophobic carbon source, and the best result was obtained when the YPG medium soapstock was added. After 7 days of *C. bombicola* cultivation in a medium containing 20 or 30% (v/v) of soapstock, 98.50 or 99.91 g/L of biosurfactant was obtained, respectively. The cultivation of *C. bombicola* in a medium with glucose for 24 h and then medium supplementation with soapstock did not improve the synthesis of biomass and biosurfactants. In the medium supplemented with waste glycerol, containing 1.45-1.63% of lipids and 62.40-70.10% of free glycerol, *C. bombicola* synthesized from 12.70 to 14.70 g/L of biosurfactants.

Keywords: biosurfactants, *Candida bombicola*, glycolipids, soapstock, sophorolipids.