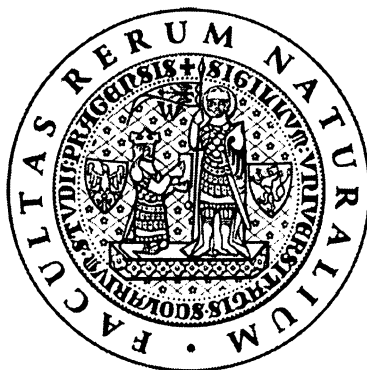


PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA UNIVERZITY KARLOVY V PRAZE

KATEDRA GENETIKY A MIKROBIOLOGIE



BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

**POVRCHOVĚ AKTIVNÍ LÁTKY BAKTERIÁLNÍHO
PŮVODU**

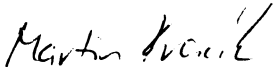
Martin Kracík

Školitel: Doc. RNDr. Jaroslava Svobodová, CSc.

2007/2008

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracoval samostatně s vyznačením všech použitých pramenů a spoluautorství. Souhlasím se zveřejněním bakalářské práce podle zákona č. 11/1998 Sb. o vysokých školách, ve znění pozdějších předpisů.

Praha

podpis 

ABSTRAKT

Řada mikroorganismů produkuje účinné povrchově aktivní sloučeniny, tzv. biosurfaktants, rozmanité svými chemickými vlastnostmi a strukturou. Biosurfaktants se jako amfipatické molekuly koncentrují na rozhraní dvou fází s různým stupněm polarity a snižují volnou energii systému tím, že vytěsňují z tohoto rozhraní molekuly s vyšší energií. Na rozdíl od surfaktants chemického původu jsou biosurfaktanty méně toxické, snadno biologicky degradovatelné a jsou stabilnější v extrémních teplotách a pH. Tyto vlastnosti z nich činí zajímavou skupinu látek vhodných k nejrůznějším aplikacím, jako je např. naftový průmysl, kontrola znečištění prostředí, farmakologie, lékařství nebo výroba potravin. V posledních letech bylo studiem produkčních kmenů, defektních v produkci surfaktants zjištěno několik biologických funkcí, které jsou produkcí surfaktants podmíněny. Současná míra využití této perspektivní skupiny látek v praxi, šetrných k životnímu prostředí, je velmi omezená a je výzvou k hledání nových produkčních technologií, které by dovolily nahradit současné, méně vhodné syntetické surfaktanty.

ABSTRACT

A large variety of microorganisms produce potent surface active agents, biosurfactants, which vary in their chemical properties and molecular size. Biosurfactants as amphipatic molecules partition preferentially at the interface between two phases of different degrees of polarity and reduce the free energy of the system by replacing the bulk molecules of higher energy at the interface. When compared with their chemical counterparts, biosurfactants have advantages in the biodegradability, lower toxicity and stability in extreme temperatures and pH. These properties make them an attractive group of compounds for application in many areas such as oil industry, environmental pollution control, pharmacology, medicine or food processing. Recently, the role of biosurfactants in biology of microbial producers has been studied intensively; several functions were characterized in mutant strains defective in surfactants. At present, the biosurfactant application is very limited. Considering the social and technological backgrounds, the exploration of biosurfactants, which are environmentally friendly and functional, have become more and more important.

Děkuji vedoucí své bakalářské práce Doc. RNDr. Jaroslavě Svobodové, CSc. za cenné rady, pomoc a trpělivost.

OBSAH

1 ÚVOD.....	6
2 POVRCHOVĚ AKTIVNÍ LÁTKY – SURFAKTANTY.....	8
2.1 CHEMICKÁ STRUKTURA A VLASTNOSTI	9
2.2 SYNTETICKÉ SURFAKTANTY.....	12
2.3 BIOSURFAKTANTY.....	12
2.4 KLASIFIKACE BIOSURFAKTANTŮ.....	14
2.5 SURFAKTIN.....	15
3 BIOLOGICKÁ FUNKCE BAKTERIÁLNÍCH SURFAKTANTS.....	17
4 SOUČASNÝ STAV POZNÁNÍ A VYUŽITÍ BIOSURFAKTANTŮ	18
5 APLIKAČNÍ VYUŽITÍ.....	20
5.1 PRŮMYSL	20
5.2 LÉKAŘSTVÍ.....	21
5.3 POTRAVINÁŘSTVÍ	23
5.4 BIOREMEDIACE.....	23
6 ZÁVĚR.....	25
7 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	26
8 ELEKTRONICKÉ ZDROJE.....	30

1 ÚVOD

Povrchově aktivní látky označované jako surfactants (surface active agents), jsou charakterizovány schopností koncentrovat se ve vodném prostředí na fázovém rozhraní voda-vzduch či voda-nepolární fáze a v uvedených systémech snižovat díky své amfipatické povaze povrchové a mezifázové napětí. Při těchto interakcích vznikají struktury nových vlastností, jako jsou micely, lamely, emulze, bubliny apod., které přitahují pozornost nejen základního výzkumu, ale i řady průmyslových odvětví, kde nacházejí tyto látky široké uplatnění. Rostoucí poptávka po surfaktantech nachází odezvu ve vyhledávání nových povrchově aktivních látek, ať již syntetického či přírodního původu. Kromě klasické výroby mýdel a povrchově aktivních látek z petrochemických zdrojů, se v současnosti pozornost obrací k biosurfaktantům, sekundárním metabolitům rostlin a mikroorganismů.

Povrchově aktivní látky jsou využívány v potravinářském, farmaceutickém, naftovém průmyslu, v biotechnologiích, v zemědělství, kosmetice, ale i v medicíně a v neposlední řadě i v ochraně přírodního prostředí usnadňováním bioremediací míst kontaminovaných organickými látkami a těžkými kovy (RODRIGUES et al. 2006).

Biosurfaktanty nabízejí oproti surfaktantům syntetickým nezanedbatelné výhody. Jsou snadno biodegradovatelné, méně toxické a tedy šetrnější k prostředí; mají lepší pěnivé vlastnosti a vyšší stabilitu v extrémních teplotách, pH a osmolaritě. Zásadní rozdíl spočívá v povaze zdroje, z něhož jsou surfaktanty vyráběny. V případě syntetických látek jsou to deriváty nafty, zatímco přírodní surfaktanty vznikají z odpadních surovin primárních výroby, tedy z obnovitelných zdrojů. Konečně další výhodou je možnost ovlivňovat kultivačními podmínkami podle potřeby kvantitativní zastoupení jednotlivých variant surfaktantů v produkovaných směsích; s odlišnou strukturou molekuly se mění její fyzikálně-chemické vlastnosti, vhodné pro různé aplikační využití (MULLIGAN 2005).

Pokud jsou v současnosti vyráběny a využívány v podstatě výlučně syntetické surfaktanty a výše uvedené přednosti biosurfaktantů zůstávají zatím nevyužity, je to způsobeno jejich nízkými výtěžky a vysokými výrobními náklady. Produkční ekonomie biosurfaktantů tak staví před mikrobiologická pracoviště základního a aplikovaného výzkumu následující úkoly, dosud neuspokojivě řešené: vyhledání vhodných a levných substrátů, optimalizaci kultivačních a

produkčních podmínek, ekonomicky únosné izolační postupy surfaktantů z kultivačních médií; největší rezervu pak představuje izolace nových mutantních a rekombinantních vysokoprodukčních kmenů (NITSCHKE 2007).

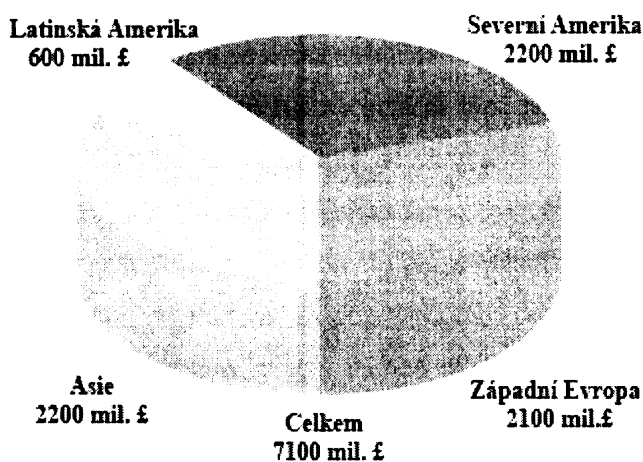
Přes rozsáhlost literatury zabývající se biosurfaktanty je zřejmé, že současné znalosti odpovídají špičce ledovce, který čeká na své objevení. Doposud jsou popsány nejlépe dva biosurfaktanty: rhamnolipidy *Pseudomonas aeruginosa* a surfaktin *Bacillus subtilis*. Je zhruba charakterizována jejich chemická struktura, biosyntetická dráha, regulace syntézy a geny tyto funkce kodující. Ne zcela dostatečné jsou právě znalosti, podmiňující výše zmíněnou ekonomickou únosnost jejich průmyslové výroby, i když dosavadní dílčí poznatky jsou nadějně. Např. publikované výtěžky surfaktinu u mutantních kmenů *B. subtilis*, získaných náhodnou chemickou mutagenezí jsou dvacetinásobně vyšší než u přírodních produkčních izolátů.

Zajímavým aspektem studia biosurfaktantů je jejich biologická funkce, která v přírodě producenta zvýhodňuje. Přestože role surfaktantů není dosud plně objasněna, přispívají zřejmě tyto látky ke zpřístupnění hydrofobních živin z prostředí a k adhezi buněk k povrchům, usnadňují aktivní pohyb na pevném povrchu (tzv. gliding a swarming motility), významná je i biocidní povaha řady povrchově aktivních látek (JULKOWSKA 2004). Atraktivním tématem je rovněž úloha surfaktants při vytváření biofilmů, strukturovaných mikrobiálních komunit adherovaných na pevné fáze. Povrchově aktivní látky vytváření biofilmů vlastního druhu podporují, zatímco znemožňují jejich vznik u bakterií jiných druhů.

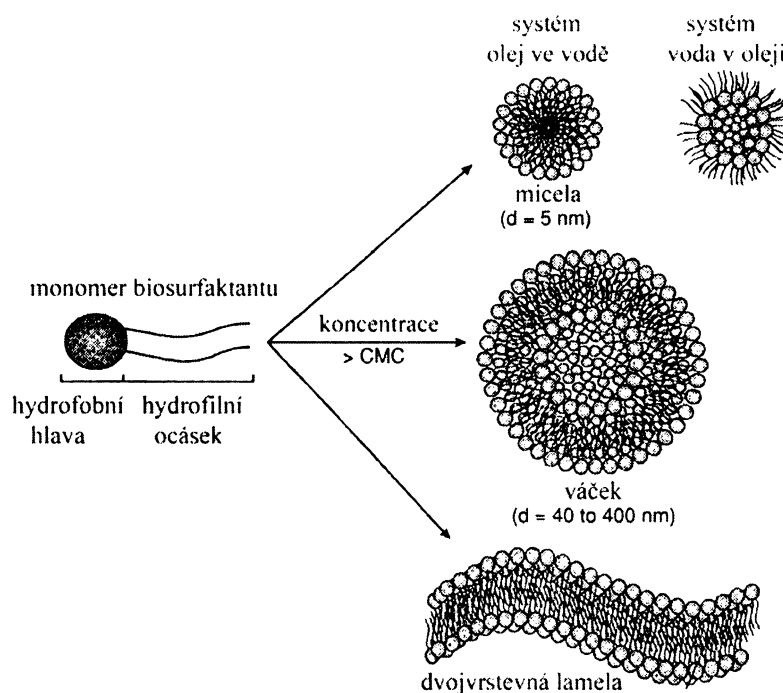
Cílem předkládané bakalářské práce je poskytnout stručný přehled hlavních oblastí zájmu o tuto skupinu bakteriálních produktů a vymezit perspektivní směry výzkumu jejich vlastností a využití v budoucnosti.

2 POVRCHOVĚ AKTIVNÍ LÁTKY – SURFAKTANTY

Užívání surfaktantů sahá hluboko do historie lidstva. Nejznámějším a nejpoužívanějším surfaktantem minulosti i dnešní doby je mýdlo. Mýdlu podobné látky se používají již od roku 2800 před naším letopočtem, kdy se vyráběly v Babylonu vařením tuku společně s popelem (HUNT 1999). Právě mýdlo je vyráběno alkalickou hydrolýzou z živočišných tuků či rostlinných olejů procesem známým jako saponifikace. V dnešní době obchod s mýdlem tvoří 30% světového trhu se surfaktanty (Obr. 1). Mýdlu podobné látky (saponiny) produkují rostliny. Jedná se především o steroidní látky či triterpenoidní glykosidy, které vykazují vlastnosti surfaktantů. Příkladem je mydlice lékařská (*Saponaria officinalis*), která produkuje množství glykosidů schopných zvyšovat smáčivost povrchů, pěnivost roztoků a rozpustnost tuků. Tyto vlastnosti jsou hledány i u moderních povrchově aktivních látek. Kromě rostlin produují surfaktanty také mikroorganismy. Bakteriemi a kvasinkami tvořené surfaktanty se nazývají biosurfaktanty neboli mikrobiální surfaktanty. Jedná se o sekundární metabolity různého chemického složení a struktur. V současné době jsou biosurfaktanty díky své snadné biodegradaci, nízké toxicitě a šetrnosti k životnímu prostředí perspektivním tématem výzkumu. Historicky využívané látky charakteru surfaktantů byly původně zcela přírodní povahy (glykosidy, rostlinné extrakty). Postupem času vznikaly látky částečně syntetické (mýdla). Po roce 1959 se objevují první syntetické produkty. Využití přírodních biosurfaktantů by mohlo být ekologickým řešením uspokojujícím do budoucna velkou poptávku po surfaktantech. Roční obrat trhu se surfaktanty se řádově pohybuje v milionech liber (SURFAKTANTS 2003).



Obr. 1. Světový obchod se surfaktanty. Převzato z (SURFAKTANTS 2003).

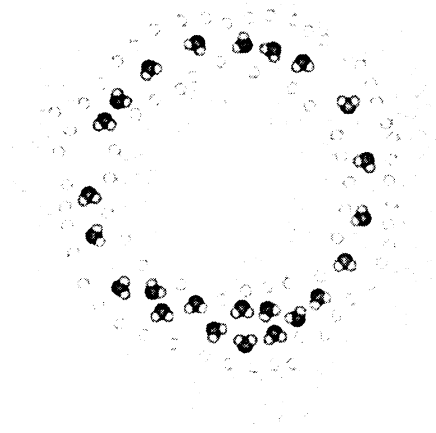


Obr. 2. Formy shluků surfaktantů. Převzato z (MAIER 2003).

2.1 CHEMICKÁ STRUKTURA A VLASTNOSTI

Surfaktanty jako amfipatické molekuly mají hydrofilní (polární) a hydrofobní (nepolární) část. Hydrofilní hlava je tvořena aminokyselinami, cyklickými peptidy, fosfáty, karboxylovými kyselinami nebo alkoholy. Základ hydrofobního ocásku tvoří mastné kyseliny či dlouhý uhlovodíkový řetězec. Polární část surfaktantu může nést náboj záporný, kladný, může být bez náboje nebo s oběma náboji. Surfaktant se koncentruje na fázovém rozhraní nejčastěji typu voda-vzduch či polární-nepolární látka polární částí v polární fázi, nepolární částí ve fázi nepolární (MULLIGAN 2005). Hydrofóbní části surfaktantů neschopné interagovat s vodou se hromadí na povrchu, což vede ke zvýšení volné energie systému. Systém se tomu "brání" vypuzením hydrofóbních částí na svůj povrch nebo tvorbou shluků z jednotlivých monomerů surfaktantu. Tyto shluky mohou nabývat charakteru jednovrstevných micel, dvojevrstevných váčků a lamelárních vrstev (Obr. 2). Lamelární vrstvy mohou být jednoduché či dvojité. Jednoduché vrstvy tvoří shluk stejně orientovaných monomerů v rovině, kdežto dvojitou lamelu tvoří dvě vrstvy s opačnou orientací, které jsou spojené hydrofóbními konci molekul. Váčky jsou kulovité

shluky, tvořené dvojvrstvou surfaktantu, oddělující část roztoku od okolí. Micely jsou také kulovité shluky, ovšem neobsahují část roztoku. Nabývají dvou forem, které vznikají na základě různé polarizace roztoků. V polárních roztocích ční hydrofóbní části k sobě. V nepolárních roztocích je tomu naopak. Jednu micelu tvoří asi 50 až 100 molekul surfaktantu (HAIGHT 1996). Na fázovém rozhraní voda-vzduch mohou dále působením surfaktantů vznikat bubliny. V tomto případě molekuly surfaktantu obklopují a stabilizují tenkou vrstvu vody. Hydrofilní části molekul ční do vody a hydrofóbní do vzduchu



Obr. 3. Mýdlová bublina. Přejato z (EXPERIMENT 1999).

(Obr. 3). Minimální koncentrace, při které vznikají micely je pro daný surfaktant charakteristická a nazývá se kritická micelární koncentrace - CMC (Critical Micelle Concentration). V praxi je CMC maximální koncentrace surfaktantových monomerů. Je ovlivněna pH, teplotou a iontovou silou roztoku (BECHER et al. 1965). Základní vlastností surfaktantů je snižování povrchového napětí (ST-surface tension) a mezipovrchového napětí (IT – interfacial tension) na rozhraní kapalina-vzduch resp. kapalina-kapalina. Povrchové napětí je důsledkem přitažlivých (kohezních) sil mezi molekulami kapaliny, které uvnitř kapaliny působí na danou molekulu ze všech stran stejně a proto se navzájem ruší. U povrchu však převažují kohezní síly působící dovnitř kapaliny nad silami adhezními, které se uplatňují mezi molekulami v kapalině a molekulami druhé, plynné fáze. Proto jsou molekuly z povrchu vtahovány do kapaliny a povrch má tendenci dosáhnout co možná nejmenší velikosti s nejmenší energií. Čím větší je povrchové napětí, tím „kulatější“ je kapička dané kapaliny. Surfaktanty snižují povrchové a mezipovrchové napětí tím, že zastupují molekuly kapaliny v povrchových vrstvách či na rozhraní fází. Účinnost surfaktantů je dána mírou snížení povrchového napětí, které vyvolávají. Za účinný je považován surfaktant schopný snížit povrchové napětí vody ze 72 na 35 mN/m, v případě rozhraní voda/n-hexadekan je to pak snížení ze 40 na 1mN/m (MAIER 2003) (Tab 1.).

Surfaktant	Povrchové napětí (mN m ⁻¹)	Mezifázové napětí (mN m ⁻¹)	CMC (mg l ⁻¹)
Glykolipidový komplex <i>Rhodococcus ruber</i>	26,8	0,9	54
Trehalosový dikorynomykolát z <i>R. erythropolis</i>	36,0	17,0	4
Trehalosový tetraester z <i>R. erythropolis</i>	26,0	<1,0	15
Rhamnolipidy z <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	29,0	0,25	50-200
Soforolipidy z <i>Torulopsis bombicola</i>	33,0	1,8	82
Surfaktin z <i>Bacillus subtilis</i>	27,0	1,0	23
Dodecylsulfát sodný	37,0	0,02	2120
Bromid cetyltrimethylamonný	30,0	5,0	1300
Tween 20	30,0	4,8	600
Lineární alkylbenzen sulfonát	47,0	<1,0	590

Tab 1. Vlastností některých surfaktantů. Převzato z (CHRISTOFI a IVSHINA 2002).

Důležitou vlastností surfaktantů je poměr jejich hydrofilních a lipofilních složek (Hydrophile-Lipophile Balance - HLB). Je totiž hlavním hlediskem při výběru surfaktantů k řešení daného praktického problému. Obecně platí, že surfaktanty s nízkým HLB jsou více lipofilní a naopak surfaktanty s vysokým HLB jsou hydrofilní (SABATINI et al. 1995). Použití biosurfaktantů na základě HLB indexu naznačuje Tab. 2.

Další schopností surfaktantů je zvyšovat rozpustnost látek a mísitelnost kapalin. Jádrem micely může být kapénka nepolární látky, surfaktant ji "obalí" a uvolní tak do roztoku. Tato vlastnost surfaktantů je velmi důležitá pro odstraňování kontaminant z půdy, funguje totiž jako antagonistka ke kapilárním silám, které váží kontaminantu na pevný povrch (TSOMIDES et al. 1995).

HLB neionických surfaktantů	Použití
<3	povrchové filmy (povlaky)
3-6	emulgace vody v oleji
7-9	smáčedla
8-15	emulgace oleje ve vodě
13-15	detergenty
15-18	rozpouštědla

Tab 2. Použití neiontových surfaktantů na základě HLB.
Převzato z (CHRISTOFI a IVSHINA 2002).

2.2 SYNTETICKÉ SURFAKTANTY

Syntetické surfaktanty se dělí do několika skupin. Hlavní skupinou jsou surfaktanty aniontové, nesoucí záporný náboj. Takovými surfaktanty jsou například alkyl sulfáty, alkyl benzen sulfonáty nebo obyčejné mýdlo. Využívají se především jako čisticí prostředky. Kationtové surfaktanty nesou kladný náboj, jsou dobrými čisticími prostředky a mají baktericidní účinky, proto se využívají v nemocnicích jako dezinfekční činidla. Nejčastěji se jedná o deriváty amoniaku. Neutrální surfaktanty nemají žádný náboj a díky své šetrnosti se používají jako prostředky na mytí nádobí. Poslední skupinou jsou zwiteriontové surfaktanty. Nesou oba typy nábojů a pro svou minimální dráždivost se používají např. do šampónů. Struktury syntetických surfaktantů znázorňuje Obr. 4 (OPHARDT 2003).

2.3 BIOSURFAKTANTY

Biosurfaktanty jsou povrchově aktivní látky produkované různými organismy. Hrají zásadní roli v lidském těle, jsou významnými sekundárními metabolity mikroorganismů a rostlin. Jedná se o širokou skupinu sloučenin různého chemického složení a struktur. V lidském organismu se vyskytují například v plicích a žluči. V plicích usnadňují dýchání tím, že snižují odpor plic při nádechu, ve žluči fungují jako emulgátory tuků.

Biosurfaktanty produkuje veliký počet mikroorganismů. Jedná se o skupinu látek mimořádně rozmanitého chemického složení, struktur a fyzikálně-chemických vlastností. Lze mezi nimi nalézt glykolipidy, lipopeptidy, fosfolipidy, mastné kyseliny, neutrální lipidy i

2.4 KLASIFIKACE BIOSURFAKTANTŮ

Dosud známé biosurfaktanty se řadí mezi látky aniontové nebo neiontové. Kationtové surfaktanty nebyly patrně díky vysoké toxicitě dosud izolovány. Formálně jsou biosurfaktanty děleny podle produkčního organismu nebo na základě molekulární hmotnosti. Nízkomolekulární typy zahrnují glykolipidy, lipoproteiny, fosfolipidy, mastné kyseliny a neutrální lipidy. Mezi vysokomolekulární povrchově aktivní látky se řadí polymerní biosurfaktanty.

Glykolipidy jsou nejběžnějším a nejprostudovanějším typem biosurfaktantů. Jsou složeny ze sacharidů a alifatických řetězců kyselin či hydroxy kyselin. Jejich relativní molekulová hmotnost se pohybuje v rozmezí 500 až 1500. Nejvíce prostudované jsou rhamnolipidy, trehalozní lipidy a sophorolipidy (SHAW 1970).

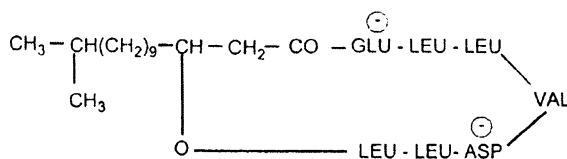
Lipoproteiny jsou tvořeny bílkovinou a uhlovodíkovým řetězcem mastné kyseliny. Bílkovinná část může být cyklické struktury a je často záporně nabitá. Lipoproteiny jsou známé pro své antibiotické účinky. Lipopeptidová antibiotika jsou například gramicidin S produkovaný *Bacillus brevis* (Marahiel et al., 1977), polymyxin, iturin, fengycin a surfaktin. Jejich molekulová hmotnost se pohybuje v rozmezí 1000 až 1500.

Fosfolipidy, mastné kyseliny a neutrální lipidy jsou převážně integrovány do biologických membrán. Jejich funkcí je patrně uvolňovat nedostupné zdroje uhlíku z prostředí. Jedním z neintegrálních lipidů je spikulisporová kyselina, produkt *Penicillium* při růstu na glukóze. Tato kultivace má poměrně vysoké výtěžky cca 110 g L⁻¹, avšak spikulisporová kyselina není příliš povrchově aktivní (Ishigami et al., 1987).

Polymerní biosurfaktanty jsou látky s vysokou molekulární hmotností (50.000-1.000.000). Jsou tvořeny převážně sacharidy či bílkoviny a lipidy. Jejich schopnost snižovat povrchové napětí je zanedbatelná. Polymerních biosurfaktantů se používá hlavně jako emulgačních činidel. Nejznámějším z nich je emulsan, produkt bakterie *Acinetobacter calcoaceticus* (Rosenberg et al., 1979).

2.5 SURFAKTIN

Surfaktin je velmi silný surfaktant s antibiotickým účinkem. Je jedním z 24 antibiotik produkovaných bakterií *Bacillus subtilis*. Nepůsobí pouze na bakterie, ale také na viry a mycoplasmy. Popsány jsou i jeho fungicidní a hemolytické vlastnosti (SINGH a CAMEOTRA 2004).



Obr 5. Surfaktin.
Převzato z (MULLIGAN 2005).

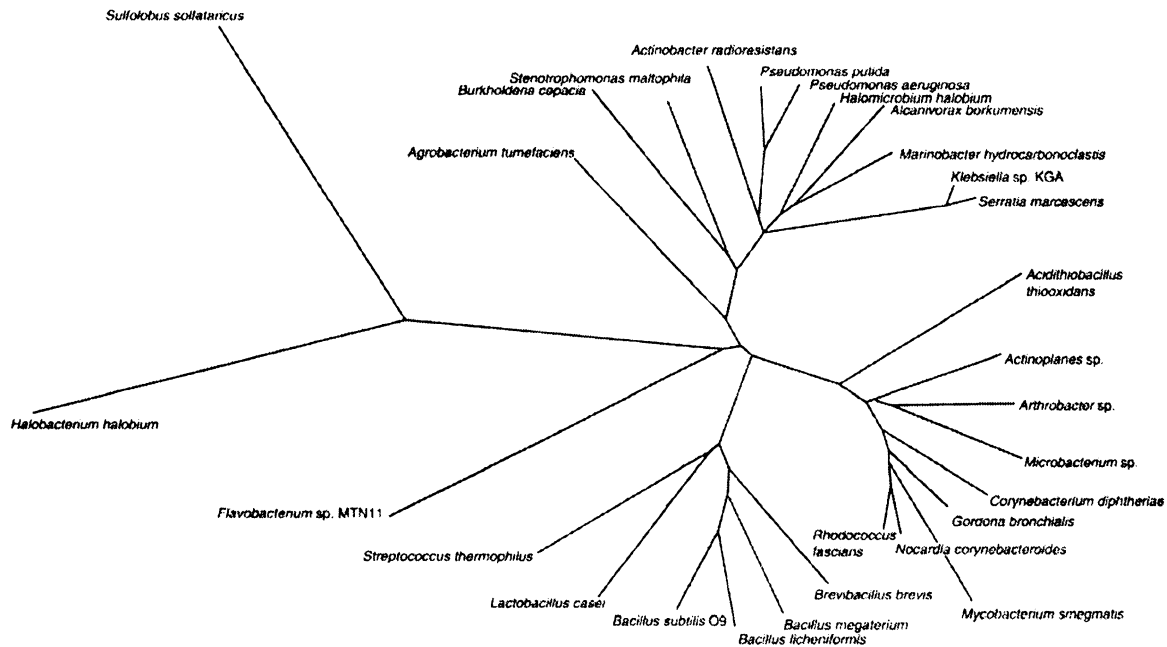
Tento biosurfaktant je tvořen smyčkou sedmi aminokyselin (L-asparagin, L-leucin, glycin, L-leucin, L-valin, D-leucin, D-leucin) a z řetězcem mastné kyseliny se třinácti až patnácti atomy uhlíku (Obr. 5). Alifatický řetězec se díky svým hydrofobním vlastnostem zařazuje do buněčné membrány a surfaktin v ní kotví (CARRILLO et al. 2003). Glycin a aspartát na pozici 1 a 6 tvoří menší polární doménu. Valin na pozici 4 spolu s mastnou kyselinou tvoří větší hydrofóbní doménu (GRAU et al. 1999). Surfaktin je syntetizován jako sekundární metabolit syntetázami neribozomálních proteinů (NRPS-nonribosomal peptide synthetases) během stacionární fáze růstu. Tedy v okamžiku, kdy v mediu není dostatečné množství živin pro růst. NRPS syntetizující surfaktin tvoří čtyři enzymatické podjednotky. První tři tvoří sedm modulů, které obsahují dvacetčtyři katalytických domén. Čtvrtá podjednotka má funkci iniciátoru syntézy. Každý modul je zodpovědný za specifické zařazení daného substrátu do roztoucího heptapeptidového řetězce (PEYPOUX et al. 1999). Jelikož není surfaktin syntetizován na ribosomech, jeho biosyntéza není regulována klasickými způsoby, jako je regulace transkripce nebo translace. Biosyntéza surfaktinu je těsně spojena se stacionární fází růstu. Přesněji s cestou navozující přirozenou kompetenci. Přirozená kompetence je fyziologický stav buňky, při kterém je schopná přijímat extracelulární DNA. Kromě toho podléhá syntéza surfaktinu i kontrole Spo0A, klíčovému faktoru sporulace (STEIN 2005). Syntéza surfaktinu je tak jednou z možností, kterými buňka čelí situaci hladovění a nepříznivých podmínek v prostředí.

Antibiotické účinky surfaktinu jsou důsledkem jeho integrace do membránové dvojvrstvy, na kterou působí třemi způsoby. První je tvorba kationtového přenašeče. Jedna molekula surfaktinu je schopná přenést jednomocné nebo dvojmocné kationty přes membránu buněk. V tomto případě fungují aminokyseliny asparagin a glycin jako kleště zachycující kation. Řetězec

mastné kyseliny umožní zachycení surfaktinu v membráně buňky a pomocí flip-flop pohybu se přesune polární část surfaktinu i s kationem do intracelulárního prostoru (HEERKLOTZ et al. 2004). Druhým efektem je tvorba póru. Surfaktin je opět pomocí řetězce mastné kyseliny zachycen v membráně buňky, ale nedochází k flip-flop pohybu. Surfaktin se kumuluje na vnější straně membrány až do kritické koncentrace, kdy mezi sebou začnou jednotlivé molekuly interagovat a vytvoří pór (DELEU et al. 2003). Posledním mechanismem je detergenový účinek surfaktinu, při kterém dochází k masivní dezorganizaci buněčné membrány a tím zvýšení její permeability (KRAGH-HANSEN et al. 1998). Z těchto mechanismů vyplývá, že surfaktin působí nespecificky, což je jeho výhoda i nevýhoda. Lze ho totiž použít jak proti gram-pozitivním, tak i gram-negativním bakteriím, dokonce proti obaleným virům. Jeho nespecifické účinky také snižují riziko vytvoření rezistentního kmene bakterií. Obdobně interaguje však surfaktin i s červenými krvinkami, které nevratně poškozuje. To v současnosti omezuje jeho perpektivní využití v medicíně. Surfaktin jako jeden z nejsilnějších biosurfaktantů snižuje povrchové napětí vody ze 72 mN/m na 27 mN/m. Tohoto efektu docílí již v malých koncentracích (10 μ M), tedy podstatně nižších než jeho kritická micelární koncentrace ve vodě (23mg/l). (COOPER et al. 1981). Přes rozsáhlé znalosti o této molekule není dosud např. znám mechanismus rezistence producenta k surfaktinu a nejasnosti jsou i ve vysvětlení interakce surfaktinu s membránami cílových buněk.

3 BIOLOGICKÁ FUNKCE BAKTERIÁLNÍCH SURFAKTANTS

Přirozená funkce bakteriálních surfaktantů není stále dokonale známa. Literární prameny popisují pouze několik teorií, jejichž společným jmenovatelem je prostředí, ve kterém bakterie žije. Tvorba biosurfaktantu je tedy přímou reakcí na podmínky panující v okolí bakterie. V teoriích vystupuje biosurfaktant buď jako látka umožňující bakterii přežít období hladovění nebo slouží jako strukturní molekula umožňující adhezi jednotlivých buněk na pevný povrch a tvorbu biofilmů (TAN et al. 1994). K největší produkci biosurfaktantů dochází během stacionární fáze růstu, kdy je vyčerpána většina živin z media. V souvislosti se stacionární fází byly popsány čtyři funkce bakteriálních surfaktantů. V první řadě biosurfaktanty snižují mezipovrchové napětí, solubilizují organické látky a umožňují bakteriím získat nový zdroj potravy (NEU 1996). V druhém případě tvoří ochranu před jinými mikroorganismy díky svým antimikrobiálním a antiadhezivním vlastnostem. V poslední řadě umožňují biosurfaktanty rojivý pohyb, takzvaný swarming, jehož pomocí bakterie uniká nevhodným podmínkám a zvyšuje možnost nalezení nových zdrojů živin (JULKOWSKA 2004). O významu biosurfaktantů pro bakterii se lze přesvědčit z velikosti jejich rozšíření v bakteriálním světě Obr. 6.



Obr 6. Phylogenetický strom producentů biosurfaktantů. Převzato z (MAIER 2003).

4 SOUČASNÝ STAV POZNÁNÍ A VYUŽITÍ BIOSURFAKTANTŮ

V současnosti se nachází oblast využití biosurfaktantů v praxi v počátcích. Důvodem jsou v podstatě čtyři hlavní okolnosti: 1) nedostatečné zkušenosti s využitím levných substrátů 2) omezené znalosti o vlastních procesech kultivace a produkce, 3) o izolaci biosurfaktantů z kultivačních roztoků a 4) největší rezervy spočívají v možnostech úpravy produkčních organismů a ve vyhledávání nových kmenů, případně ve vyhledávání nových povrchově aktivních látek. Díky této situaci není výroba biosurfaktantů v současnosti schopna ekonomicky konkurovat syntetickým postupům.

Cena **kultivačních substrátů** činí asi 10-30% výsledné ceny produktu. Pro snížení tohoto podílu lze využít levnějších kultivačních materiálů jakými jsou například zemědělské odpady, rostlinné oleje, škrobové vody či destilační výluhy (MAKKAR a CAMEOTRA 2002). Tyto materiály jsou snadno dostupné po celém světě a jejich využitím pro výrobu biosurfaktantů lze současně vyřešit problém s jejich ekologickou likvidací. Pro jejich komerční využití je však zapotřebí dalšího výzkumu.

Vývoj **produkčních procesů** je základní podmínkou pro komerční výrobu biotechnologických produktů. Pod tímto pojmem si lze představit zvýšení výtěžků na základě optimalizace kultivačního media a vnějších podmínek. Mnohé látky dokážou pozitivně ovlivnit produkci biosurfaktantů. Jsou jimi například dusík, železo a hořčík (DUBEY a JUWARKAR 2004). Naopak existují látky, které produkci biosurfaktantů většinou inhibují. Příkladem takové látky je glukóza. Klasická metoda jak optimalizovat složení kultivačního media zahrnuje změnu jednoho faktoru za konstantních hodnot ostatních faktorů. Tato metoda je však časově velmi náročná, proto byly navrženy multifaktorové systémy umožňující rychlejší optimalizaci kultivačních medií. Tímto způsobem se podařilo zvýšit produkci biosurfaktantů u některých mikroorganismů až o 72% (SEN a SWAMINATHAN 2004).

Dalším kritickým aspektem produkce biosurfaktantů je rychlost, účinnost a nákladnost jejich **izolačního procesu**. Činí až 60% výrobních nákladů. Obecné metody izolace zahrnují kyselou precipitaci, rozpouštěcí extrakci, krystalizaci, precipitaci sulfátem amonným či centrifugaci (DESAI a BANAT 1997). Kromě těchto konvenčních metod se objevilo několik speciálních, které využívají typických vlastností biosurfaktantů, jako například snižování

povrchového napětí či tvorba micel. Jedná se o pěnové frakcionace, ultrafiltrace, adsorbce a desorbce na pevný povrch či chromatografie. Výhodou těchto metod je možnost jejich aplikace souběžně s kontinuální kultivací a získání velmi čistých produktů (DUBEY et al. 2005). Ovšem i v tomto případě je potřeba dalšího výzkumu.

Genetický přístup k **úpravě produkčních kmenů** skrývá nezměrné možnosti. Metodami náhodné mutagenese byly dosud např. u *B. subtilis* získány kmeny s výtěžkem 50g surfaktinu / l, což je dvacetinásobek hodnot pro primární přirozené producenty. Zásahem do genů kodujících enzymy syntézy biosurfaktantu lze modifikovat i strukturu jeho molekuly. Příkladem je opět surfaktin, lipopeptid s velkým antimikrobiálním potenciálem, který však současně lyzuje erythrocyty. Modifikací klíčového enzymu peptid syntetázy, lze získat linearizovanou formu surfaktinu (SYMMANK et al. 2002). Tato forma surfaktinu je vůči erythrocytům méně toxická a vykazuje zvýšenou inhibici bakteriálních buněk.

Posledním problémem komercializace produkce biosurfaktantů je složitost **vyhledávání nových produkčních kmenů**. Biosurfaktanty jsou velmi variabilní látky a stejně jako jejich struktura je variabilní i jejich genetický základ. Proto při jejich vyhledávání nelze využít klasických molekulárně genetických metod, jako je například DNA screening. Jednou z mála možností jak vyhledávat nové biosurfaktanty je metoda drop-collapse (BODOUR a MILLER-MAIER 1998). Je založena na schopnosti biosurfaktantů snižovat povrchové napětí. Malý objem izolovaného produktu se nanese na vodní kapku. V přítomnosti biosurfaktantu kapka zkolabuje, kdežto v nepřítomnosti si uchová svůj kulový tvar.

5 APLIKAČNÍ VYUŽITÍ

Biosurfaktanty jako chemicky variabilní skupina látek nacházejí uplatnění v široké škále oborů lidské činnosti počínaje průmyslem, v medicíně, potravinářství i v ochraně životního prostředí. Oblast těžby a zpracování ropy až po ekologické havárie spojené s únikem ropy do prostředí skýtá veliký prostor působnosti pro použití biosurfaktantů.

5.1 PRŮMYSL

Jedním z příkladů průmyslového využití biosurfaktantů je technologie MEOR (microbial enhanced oil recovery). Používá se k přepravě ropy v cisternách a potrubí. Mikroorganismy produkující polymerní biosurfaktanty snižují fázové napětí mezi ropou a zařízením; tím umožňují lepší průtok a menší ztráty. U této technologie se bakterie kultivují buď mimo zařízení a do potrubí se odvádějí pouze jejich produkty nebo se bakterie kultivují přímo v zařízení. Takovéto bakterie musí být schopné růstu a množení za extrémních podmínek, jako je vysoká teplota, tlak, osmolarita nebo nízká koncentrace kyslíku (FRATESI 2002). Bakterie jsou kultivovány na levných substrátech, které jsou do zařízení dodávány. Jedná se například o melasu či roztoky anorganických živin. Nástin průmyslového využití biosurfaktantů ukazuje Tab. 3.

Funkce	Země- dělství	Staveb- nictví	Plasty	Potraviny, čistící protředky	Průmy- slové čištění	Kůže	Kovy	Papír	Barvy nátery	Petrochem- ický průmysl	Textil
Emulgace	X		X	X		X	X		X	X	X
Deemulgace										X	
Smáčení	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Solubilizace	X		X	X						X	X
Pěnění		X	X	X			X			X	
Detergence				X	X	X		X		X	X
Antistatický účinek			X						X		X
Inhibice koroze					X					X	

Tab. 3. Využití biosurfaktantů v průmyslu. Převzato z práce (KARANTH et al. 1999) a upraveno.

5.2 LÉKAŘSTVÍ

Některé biosurfaktanty jsou schopny nahradit syntetická léčiva a antimikrobiální látky. Jejich použití je často bezpečnější a účinnější (RODRIGUES et al. 2006). Biosurfaktanty vykazují účinky antimikrobiální, antiadhezivní a antitumorové. Díky svým vlastnostem narušují membránu buněk. Avšak jejich působení se liší podle typu cílové buňky. Bylo zjištěno, že citlivost savčích buněk k surfaktinu je nižší než citlivost mykoplazem. Růst mykoplazmy inhibuje 25 μ M koncentrace surfaktinu (KIM et al. 2007), přičemž hemolytická aktivita surfaktinu se projeví při koncentraci 40 μ M (DEGHAN-NOUDEH et al. 2005). Tohoto jevu lze využít pro specifické zabití mykoplazmy bez narušení metabolismu buněčné kultury (VOLLENBROICH et al. 1997). Nové studie uvádějí, že surfaktin je schopen zabít mykoplazmou napadené buňky nezávisle na koncentraci cílových buněk, což je velká výhoda oproti obvyklým antibiotikům. Působení surfaktinu s enrofloxacinem je dokonce synergní - vzájemné působení je lepším, než kdyby každá látka působila zvlášť (FASSI FEHRI et al. 2007). Biosurfaktanty jsou schopny inhibovat adhezi patogeních organismů na pevné povrchy. Tato vlastnost může být základem nového způsobu boje proti kolonizaci povrchů patogenními bakteriemi (SINGH a CAMEOTRA 2004). Stejně metody užívá bakterie *Lactobacillus*, která osidluje ženský urogenitální trakt a funguje jako bariera proti infekcím. *Lactobacillus* přispívá ke kontrole vaginální mikroflóry tím, že kompetuje s jinými mikroorganismy o prostor na povrchu sliznic. Jeho surfaktanty znemožňují adhezi jiným bakteriím (BORIS et al. 2000). V lékařské praxi lze tohoto jevu využít i při ošetření povrchů lékařských předmětů. Příkladem mohou být předměty vyrobené ze silikonu (REID 2000). Surfaktanty lidského těla hrají při obraně proti infekcím významnou roli. Plicní surfaktanty, lipopeptidy syntetizované a sekretované plicním epitelem do extracelulárního prostoru, snižují povrchové napětí a představují klíčový faktor proti infekcím a zánětlivým onemocněním (WRIGHT 2003). Dále snižují odpor, který kladou plíce při nádechu a tím ulehčují dýchání. Některé surfaktanty byly označeny jako protinádorová agens. Příkladem je surfaktin. Studie zkoumající efekt surfaktinu na rakovinu tlustého střeva ukázaly, že surfaktin silně blokuje proliferaci nádorových buněk. Inhibuje růst buněk pomocí indukované apoptózy a zastavením buněčného cyklu (KIM et al. 2007). Potenciální využití biosurfaktantů v medicíně shrnuje Tab. 4.

Mikroorganismus	Typ biosurfaktantu	Aktivita / aplikace
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	rhamnolipidy	<ul style="list-style-type: none"> • antimikrobiální působení na <i>Mycobacterium tuberculosis</i> • antiadhezivní působení na různé bakteriální a kvasinkové kmeny
<i>Bacillus subtilis</i>	surfaktin	<ul style="list-style-type: none"> • antimikrobiální a fungicidní působení • inhibice tvorby fibrinových sraženin • hemolýza a tvorba iontových kanálů v lipidových membránách • protinádorové působení • antivirové působení na human imunodeficiency virus 1 (HIV – 1)
<i>Bacillus pumilus</i>	pumilacidin (analog surfaktinu)	<ul style="list-style-type: none"> • antivirové působení na herpes simplex virus 1 (HSV -1) • inhibuje aktivitu H⁺, K⁺-ATPázy a chrání před žaludečními vředy <i>in vivo</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	iturin	<ul style="list-style-type: none"> • antimikrobiální a fungicidní působení na závažné mykózy • mění morfologii a membránovou strukturu kvasinek • zvyšuje elektrickou vodivost lipidových membrán • netoxická a nepyrogní imunologická pomocná látka
<i>Bacillus licheniformis</i>	lichenysin	<ul style="list-style-type: none"> • antibakteriální působení • chelatační působení
<i>Candida antarctica</i>	mannosylerythritol lipid	<ul style="list-style-type: none"> • antimikrobiální, imunologické a neurologické působení • indukuje diferenciaci lidských promyelocytických buněk při leukémii řady HL60
<i>Rhodococcus erythropolis</i>	trehalosa lipidy	<ul style="list-style-type: none"> • antivirové působení na chřipkový virus
<i>Streptococcus thermophilus</i>	glycolipid	<ul style="list-style-type: none"> • antiadhezivní působení na různé bakteriální a kvasinkové kmeny
<i>Streptococcus mitis</i>	není identifikován	<ul style="list-style-type: none"> • antiadhezivní působení na <i>Streptococcus mutans</i>
<i>Lactobacillus</i>	surlaktin	<ul style="list-style-type: none"> • antiadhezivní působení na různé patogeny včetně enterobakterií
<i>Lactococcus lactis</i>	není identifikován	<ul style="list-style-type: none"> • antiadhezivní působení na různé bakteriální a kvasinkové kmeny

Tab. 4. Příklady aplikace biosurfaktantů v medicíně. Převzato z (RODRIGUES et al. 2006) a upraveno.

5.3 POTRAVINÁŘSTVÍ

Biosurfaktanty vykazují mnohé vlastnosti, které lze využít v potravinářském průmyslu. Jsou jimi například emulgate a stabilizace substrátů, antiadhezivní vlastnosti nebo antimikrobiální účinky. Potenciální aplikace biosurfaktantů v potravinářství, spolu s využíváním zemědělských odpadů jako substrátů pro jejich produkci jsou v současné době tématem výzkumu. Biosurfaktanty lze v potravinářském průmyslu využít dvěma způsoby. První je přímé použití biosurfaktantů jako ingrediencí při přípravě potravin. Druhým je ošetření povrchů, které jsou při výrobě v kontaktu s potravinou. Biosurfaktanty používané jako potravinová aditiva, zabezpečují vhodnou aglomeraci tukových kapének, stabilizují kynuté potraviny a zlepšují strukturu pšeničných, škrobových a tukových těst (KOSARIC 1992).

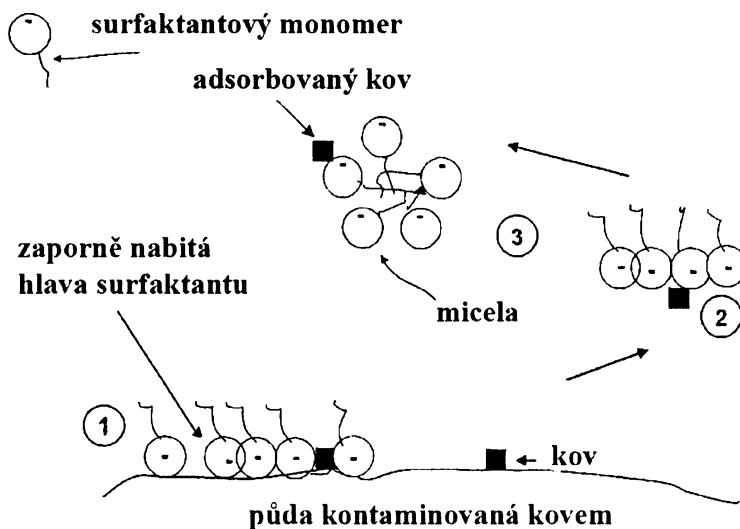
Biofilmy jsou definovány jako konsorcia bakterií kolonizujících povrchy, avšak do biofilmů patří také všechny jejich extracelulární produkty a jakýkoliv materiál v něm zachycený. Takto pokryté povrchy jsou v potravinářském průmyslu zdrojem potenciálních kontaminací produktů a hlavně zdrojem patogenních bakterií. Základem biofilmů jsou bakterie zachycující se na površích. Použití biosurfaktantů se zdá být vhodnou strategií, jak takovýmto zachycením předejít (BUSSCHER et al. 1997).

Biosurfaktanty lze dále využít pro zvýšení účinnosti herbicidů, pesticidů nebo rostlinných růstových regulátorů, které jsou aplikovány v rostlinné výrobě. Zde fungují biosurfaktanty jako činidla umožňující lepší smáčivost povrchů listů. To pak umožňuje používat menší množství funkční látky a zvyšuje její účinnost (Banat et al. 2000).

5.4 BIOREMEDIACE

Další perspektivní oblastí využití biosurfaktantů je odstraňování kontaminací z půdy – bioremediace. Biosurfaktanty produkované mikroorganismy lze považovat za pilíře bioremediace. Hlavními složkami půdního znečištění jsou organické sloučeniny jako polycyklické aromatické uhlovodíky (PAH - polycyclic aromatic hydrocarbons), polychlorované bifenyly PCB, pesticidy a také těžké kovy (MCELROY et al. 2000). PAH jsou produkovány ropným a uhelným průmyslem. Jedná se o rozmanitou skupinu mnoha chemických látek, počínaje nízkomolekulárními (např. naftalen) až po vysokomolekulární (např. pyren). Nízkomolekulární látky jsou dostatečně rozpustné ve vodě a tím i dostupné mikroorganismům,

které je degradují. Vysokomolekulární však tuto schopnost nemají a vážou se stejně jako těžké kovy na půdní elementy. Takto vázané látky jsou degradujícím mikroorganismům nedostupné a tudíž přirozeně neodstranitelné. Mikroorganismy, které jsou schopny produkovat biosurfaktant, rozpustnost dané kontaminanty zvyšují (HERMAN et al. 1995). Teoretický mechanismus uvolňování kovových kontaminantů z půdy nastiňuje Obr. 7.



Obr. 7. Možný mechanismus odstraňování kovů pomocí surfaktinu. Převzato z práce (MULLIGAN 2005) a upraveno. 1. nasednutí molekul surfaktinu na kov, 2. odstranění kovu pomocí snížení povrchového napětí, 3. inkorporace kovu do micely

6 ZÁVĚR

Biosurfaktanty jsou již dnes významnou skupinou látek, která má potenciál velkého využití v nejrůznějších oblastech lidské činnosti. V jejich různorodosti a původu lze nalézt paralelu s nejpoužívanějšími léky dnešní doby - antibiotiky. Stejně jako antibiotika jsou biosurfaktanty sekundárními metabolity mikroorganismů a mají nezměrné množství chemických struktur. Dokonce některé biosurfaktanty jsou antibiotika. Bohužel právě vysoká variabilita struktur a genetického základu znemožňuje použít klasické molekulárně genetické metody pro rychlé objevení nových. Další překážkou komerční výroby je jejich vysoká cena. Avšak tlak na výrobu přírodně odbouratelných látek podporuje intenzivní výzkumy, které odhalují nové možnosti, jak na poli kultivačních medií tak v samotných výrobních procesech. Pakliže bude výzkum této oblasti postupovat dále, lze očekávat mnoho významných objevů, které pomohou zlepšit životní prostředí, umožní nové směry průmyslových výrob a přispějí k řešení léčby některých dnes nevléčitelných chorob.

7 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. Banat I.M., Makkar R.S., Cameotra S.S., Potential commercial applications of microbial surfactants, *Appl. Microbiol. Biotechnol*, 2000, 52, 495–508.
2. Becher, P., *Emulsions, theory and practice*, 2nd ed., Reinhold Publishing, New York, 1965
3. Bodour A.A., Miller-Maier R.M., Application of a modified drop-collapse technique for surfactant quantitation and screening of biosurfactant-producing microorganisms, *J. Microbiol. Methods*, 1998 , 32, 273–280
4. Boris S., Barbés C., Role played by lactobacilli in controlling the population of vaginal pathogens, *Microbes infect*, 2000, 2, 543-6
5. Busscher H.J., van Hoogmoed C.G., Geetsema-Doornbusch G.I., van der Kuij-Booij M., van der Mei H.C., *Streptococcus thermophilus* and its biosurfactants inhibit adhesion by *Candida* spp. On silicone rubber, *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, 63, 3810-1817
6. Carrillo C., Teruel J.A., Aranda F.A., Ortiz A., Molecular mechanism of membrane permeabilization by the peptide antibiotic surfactin, *Biochem. Biophys. Acta*, 2003, 1611, 91-97
7. Christofi N., Ivshina I.B., Microbial surfaktants and their use in field studies of soil remediation, *Journal of Applied Microbiology*, 2002, 93, 915-929
8. Cooper D.G., Zajic J.E., Denis C., *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1981, 58, 77-80
9. Dehghan-Noudeh G., Housaindokht M., Fazly Bazzaz B.S., Isolation, characterization and investigation of surface and hemolytic activities of a lipopeptide biosurfactant produced by *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *J. Microbiol.*, 2005, 43,272-276
10. Deleu M., Bouffioux O., Razafindralambo H., Pauot M., Hbid C., Thonart P., Jacques P., Brasseur R., Interaction of surfactin with Membranes, *Langmuir*, 2003, 19, 3377-3385
11. Desai J.D., Banat I.M., Microbial production of surfactants and their commercial potential, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 1997, 61, 47–64

12. Dubey, K.V. et al., Adsorption–desorption process using woodbased activated carbon for recovery of biosurfactant from fermented distillery wastewater, *Biotechnol. Prog.*, 2005, 21, 860–867
13. Dubey K., Juwarkar A., Determination of genetic basis for biosurfactant production in distillery and curd whey wastes utilizing *Pseudomonas aeruginosa* strain BS2, *Indian J. Biotechnol.*, 2004, 3, 74–81
14. Fassi Fehri L., Wroblewski H., Blanchard A., Activities of antimicrobial peptides and synergy with enrofloxacin against *Mycoplasma pulmonis*, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2007, 51, 468-74
15. Fratesi S.E., Distribution and Morphology of Bacteria and their Byproducts in Microbial Enhanced Oil Recovery Operations. A Thesis Submitted to the Faculty of Mississippi State University. Retrieved October 9, 2002
16. Grau A., Gomez Fernandez J.C., Peypoux R., A Study on the Interactions of Surfactin With Phospholipid Vesicles, 1999, 1418, 307–319
17. Haight S.D., A review of the interaction of surfactants with organic contaminants in soil, *Science of the Total Environment*, 1996, 185, 161-170
18. Heerklotz H., Wieprecht T., Seelig J., Membrane Perturbation oby the Lipopeptide Surfactin and Detergents as Studied by Deuterium NMR, *J. Phys. Chem.*, 2004, 108, 4909–4915
19. Herman D.C., Artiola J.F., Miller R.M., Removal of cadmium, lead, and zinc from soil by a rhamnolipid biosurfactant, *Environ. Sci. Technol.*, 1995, 29, 2280–2285
20. Hunt J.A., A short history of soap, *The Pharmaceutical Journal*, 1999, 263, 985-989
21. Ishigami Y., Gama Y., Yamazaki S., Suzuki S., Characteritics of spiculisporic acid as a polycarboxylic biosurfactant, *Amer. Oil Chem. Soc.*, 1987, 339-342
22. Julkowska D., Obuchowski M., Holland I.B., Séror S.J., Comparative Analysis of the Development of Swarming Communities of *Bacillus subtilis* 168 and a Natural Wild Type: Critical Effects of Surfactin and the Composition of the Medium, *Journal of Bacteriology*, 2004, 187, 65-72
23. Karanth N.G.K., Deo P.G., Veenanadig N.K., Microbial production of biosurfactants and their importance, *Current science*, 1999, 77, 116-126

24. Kim S.Y., Kim J.Y., Kim S.H., Bae H.J., Yi H., Yoon S.H., et al., Surfactin from *Bacillus subtilis* displays anti-proliferative effect via apoptosis induction, cell cycle arrest and survival signaling suppression, *FEBS lett.*, 2007, 581, 865-871
25. Kosaric N., Biosurfactants in industry, *Pure & Appl. Chem.*, 1992, 84, 1731-1737
26. Kragh-Hansen U., Maire M., Moller J., The Mechanism of Detergent Solubilization of Liposomes and Protein-Containing Membranes, *Biophys. J.*, 1998, 75, 2932–2946
27. Maier R.M., Biosurfactants: Evolution and Diversity in Bacteria, *Advances in Applied microbiology*, 2003, 52,65-2164
28. Makkar R.S., Cameotra S.S., An update on use of unconventional substrates for biosurfactants production and their new applications, *Appl. Microbiol. Biotechnol*, 2002, 58, 428–434
29. McElroy A.E., Farrington J.W., Teal J.M., Metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons in the aquatic environment, CRC Press, Boca Raton, 1989
30. Mukherjee S., Das P., Sen R., Towards commercial production of microbial surfactants, *Trends in Biotechnology*, 2006, 24, 167-7799
31. Mulligan C.N., Environmental applications for biosurfactants, *Environ. Pollut.*, 2005, 133, 183-198
32. Nitschke M., Costa S.G.V.A.O., Biosurfactants in food industry, *Trends in Food Science and technology*, 2007, 18, 252-259
33. Nitschke M., Pastore G.M., Production and properties of a surfaktant obtained from *Bacillus subtilis* grown on cassava wastewater, *Bioresource Technology*, 2006, 97, 336-341
34. Neu T. R., Significance of bacterial surface-active compounds in interaction of bacteria with interfaces, *Microbiol. Rev*, 1996, 60, 151–166
35. Peypoux F., Bonmatin J.M., Wallach J., Recent trends in th biochemistry of surfactin, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 1999, 51, 553-563
36. Ramos J.L., Duque E., Rodriguez-Hervas J.J., Godoy P., Haidour A., Reyes F., Fernandez-Barrero A., Mechanisms for solvent tolerance in bacteria, *J.Biol.Chem.*, 1997, 272, 3887-3890
37. Reid G., In vitro testing of *Lactobacillus acidophilus* NCFM as a possible probiotic for the urogenital tract, *Int Dairy J*, 2000, 10, 415-9

38. Rodrigues L., Banat I.M., Teixeira J., Oliveira R., Biosurfactants: potential applications in medicine, *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 2006, 57, 609-618
39. Rosenberg E., Ron E.Z., High- and low-molecular-mass microbial surfactants, *Applied microbiology and biotechnology*, 1999, 52, 154-162
40. Rosenberg E., Zuckerberg Z., Rubinovitz C., Gutnick, D.L., Emulsifier of *Arthrobacter* RAG-1: Isolation and emulsifying properties, *Appl. Environ. Microbiol.*, 1979, 37, 402–408.
41. Sabatini D.A., Knox R.C., Harwell J.H., Surfactant enhanced subsurface remediation: Emerging technologies, ACS symposium series 594, Washington DC, 1995
42. Sen R., Swaminathan T., Response surface modeling and optimization to elucidate the effects of inoculum age & size on surfactin production, *Biochem. Eng. J.*, 2004, 21, 141–148
43. Shaw N., *Bacteriol. Rev.*, 1970, 34, 365-377
44. Seydlová G., Svobodová J., Review of Surfactin Chemical Properties and the Potential Biomedical Applications, *Cent. Eur. J. Med.*, 2007
45. Singh P., Cameotra S.S., Potential applications of microbial surfactants in biomedical sciences, *Trends Biotechnol.*, 2004, 22, 142-146
46. Stein T., *Bacillus subtilis* antibiotics: structures syntheses and specific functions, *Mol. Microbiol.*, 2005, 56, 845-857
47. Symmank H., Franke P., Saenger W., Bernhard F., Modification of biologically active peptides: production of a novel lipohexapeptide after engineering of *Bacillus subtilis*
48. Tan H., Champion J.T., Artiola J.F., Brusseau M.L., Miller R.M., Complexation of cadmium by a rhamnolipid biosurfactant, *Environ. Sci. Technol.*, 1994, 28, 2402–2406
49. Tsomides H.J., Hughes J.B., Thomas J.M., Ward C.H., Effect of surfactant addition on phenanthrene biodegradation in sediments, *Environmental toxicology and chemistry*, 1995, 14, 953-959
50. Vollenbroich D., Ozel M., Vater J., Kamp R.M., Pauli G., Mechanism of inactivation of enveloped viruses by the biosurfactant surfactin from *Bacillus subtilis*, *Biologicals*, 1997, 25, 289-297
51. Wright J.R., Pulmonary surfactant: a front line of lung host defense, *J Clin Invest*, 2003, 111, 1453-55

8 ELEKTRONICKÉ ZDROJE

1. Experiment 5 [online]. 02.03.99 [cit. 2008-08-13]. Dostupný z WWW: <<http://wwwchem.csustan.edu/chem2000/Exp5/BKG.HTM>>.
2. OPHARDT C. Virtual Chembook [online]. 2003 [cit. 2008-08-13]. Dostupný z WWW: <<http://www.elmhurst.edu/~chm/vchembook/558detergent.html>>.
3. Surfactants: the ubiquitous amphiphiles [online]. 2003 July [cit. 2008-08-13]. Dostupný z WWW: <<http://www.rsc.org/chemistryworld/Issues/2003/July/amphiphiles.asp>>.