

Agnieszka Rożek*, Ludwina Jarzynowska*, Dorota Wolicka*

**BIOLOGICZNE UTLENIANIE MONOPIERŚCIENIOWYCH
WĘGLOWODORÓW AROMATYCZNYCH W ŚRODOWISKACH
SPRZYJAJĄCYCH REDUKCJI SIARCZANÓW**

**BIOLOGICAL OXIDATION OF MONOAROMATIC HYDROCARBONS IN
ENVIRONMENTS CONDUCTIVE TO THE REDUCTION OF SULPHATES**

Słowa kluczowe: Monopierścieniowe węglowodory aromatyczne, BTEX, bakterie redukujące siarczany, biologiczna degradacja związków ropopochodnych.

Key words: Monoaromatic hydrocarbons, BTEX, sulphate-reducing bacteria, biological degradation of petroleum compounds.

One of the most important problems of modern civilization is the contamination of soil and groundwater by petroleum and its products. Oil and water reservoir are a mixture of many different compounds, both organic and inorganic, including monoaromatic hydrocarbons from the BTEX group, such as benzene, toluene, ethylbenzene and xylene [Fukui et al. 1999]. These compounds are hiper-osmotic in relation to the environment and are toxic to most living organisms, also show a carcinogenic and mutagenic properties [Migaszewski, Gałuszka 2007]. Environmental impacts associated with mining and petroleum exploitation are the habitats in which they live many groups of microorganisms, including sulfate-reducing bacteria (SRB), which play an important role in the bioremediation of sites contaminated petroleum compounds [Wolicka 2008; Wolicka, Borkowski 2008]. These microorganisms have a natural ability to metabolize various organic compounds, including monoaromatic hydrocarbons. SRB oxidize BTEX to non-toxic compounds or carry out their complete mineralization to simple inorganic compounds such as carbon dioxide and water [Wolicka 2010]. This microbial activity is used to reduce the concentration and toxicity of many groups of pollutants [Dua et al. 2002].

* *Mgr Agnieszka Rożek, mgr Ludwina Jarzynowska, dr Dorota Wolicka – Instytut Geochemii, Mineralogii i Petrologii, Wydział Geologii, Uniwersytet Warszawski, ul. Żwirki i Wigury 93; 02-089 Warszawa; e-mail: a.gojska@student.uw.edu.pl, l.jarzynowska@student.uw.edu.pl, d.wolicka@uw.edu.pl*

1. WPROWADZENIE

U podstaw rozwoju gospodarki człowieka leży wykorzystanie zasobów naturalnych, z których najważniejsze to ropa naftowa i gaz ziemny. Nadmierna eksploatacja złóż naftowych, awarie podczas wydobycia, magazynowania, transportu i przerobu surowców, to główne przyczyny narastającego skażenia środowiska związkami ropopochodnymi.

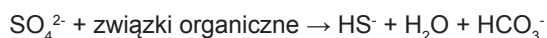
Ropa naftowa oraz wody złożowe stanowią mieszaninę wielu różnych związków, zarówno organicznych, jak i nieorganicznych, wśród których wyróżniamy m.in. węglowodory alifatyczne i aromatyczne, np. monopierścieniowe węglowodory aromatyczne z grupy BTEX, takie jak benzen, toluen, etylobenzen i ksylen [Fukui i in. 1999]. Pierwiastki biogenne, takie jak tlen, azot i siarka, występują w postaci związków heterocyklicznych, np.: fenoli, piroli, merkaptanów oraz pochodnych tiofenu. W większości wód złożowych stwierdza się także obecność metali ciężkich, takich jak: rtęć, ołów, żelazo, glin, nikiel, arsen itp. [Surygała 2006]. Związki występujące w ropie naftowej i wodach otaczających złoża mają charakter hiperosmotyczny w stosunku do środowiska i są toksyczne dla większości organizmów. Szczególnie negatywne oddziaływanie na rozwój organizmów żywych wykazują BTEX, które charakteryzują się rakotwórczymi i mutagennymi właściwościami [Migaszewski, Gałuszka 2007]. BTEX są obecne w wielu produktach ropopochodnych, znajdujących się w bliskim otoczeniu człowieka: w benzynach, oleju napędowym, paliwie lotniczym, smarach, rozpuszczalnikach, olejach niskowrzących, zużytych olejach silnikowych oraz olejach zanieczyszczonych. Ponadto węglowodory te, ze względu na relatywnie wysoką rozpuszczalność w wodzie, wykazują dużą mobilność w wodzie gruntowej i glebie, zanieczyszczając tym samym środowisko przyrodnicze.

Złoże ropy naftowej oraz środowiska zanieczyszczone związkami ropopochodnymi stanowią miejsce występowania wielu grup mikroorganizmów, zarówno tlenowych, jak i beztlenowych. Wiele grup mikroorganizmów ma naturalną zdolność przekształcania monopierścieniowych węglodorów naftowych w związki nietoksyczne lub też całkowitej ich mineralizacji do prostych związków nieorganicznych, takich jak dwutlenek węgla i woda [Wolicka 2010; Dua i in. 2002].

2. BAKTERIE REDUKUJĄCE SIARCZANY W ŚRODOWISKU ROPY NAFTOWEJ I WÓD ZŁOŻOWYCH

Grupą mikroorganizmów najczęściej izolowaną ze środowisk związanych z wydobyciem i eksploatacją ropy naftowej są bakterie redukujące siarczany [Wolicka 2008; Wolicka i Borkowski 2008]. Odgrywają one bardzo ważną rolę w środowisku, głównie ze względu na zdolność metabolizowania różnych związków organicznych, w tym monopierścieniowych węglodorów aromatycznych, wchodzących w skład ropy naftowej.

Bakterie redukujące siarczany (BRS) to bezwzględnie beztlenowce, które wykorzystują utlenione związki siarki (siarczany, tiosiarczany itd.), obecne w ropie naftowej, jako ostateczny akceptor elektronów [Fauque i in. 1991]. Węglowodory aromatyczne są związkami bardziej zredukowanymi niż produkty ich rozkładu, dlatego podczas ich utleniania jest wymagana obecność akceptorów elektronów o wyższym potencjale redoks. W procesie dysymilacyjnej redukcji siarczanów BRS przeprowadzają redukcję utlenionych związków siarki do siarki elementarnej lub/i jonu S^{2-} [Chen i in. 1994]. Jako organizmy heterotroficzne używają one energii wskutek utleniania związków organicznych [Hansen 1993], przy czym oderwane od substratu elektrony są przenoszone na jon siarczanowy. Proces ten można przedstawić za pomocą następującego równania [Hao i in. 1996]:



Bakterie redukujące siarczyn, wyizolowane z ropy naftowej i wód złożowych, mogą wykorzystywać różne związki organiczne jako donory elektronów [Wolicka 2008]. Należą do nich m.in. węglowodory ropy naftowej, a także liczne związki organiczne, będące produktami jej biodegradacji, np. kwasy organiczne: mrówkowy, octowy, masłowy oraz kwasy naftonowe [Hao i in. 1996; Magot 2005]. Bakterie redukujące siarczany to bardzo zróżnicowana grupa mikroorganizmów, obejmująca organizmy psychrofilne, mezo- i termofilne, halo- i barofilne [Postgate 1984]. Do BRS najczęściej izolowanych z terenów ropy naftowej należą mezofile: *Desulfotomaculum nigrificans*, *Desulfovibrio longus*, *D. gabonensis* czy *Desulfomicrobium apsheronum*. Do tej pory wyizolowano i opisano również wiele gatunków mikroorganizmów termofilnych, które dzięki termostabilnym enzymom są w stanie przeprowadzić optymalną biodegradację związków ropopochodnych w temperaturze ok. 85°C, m.in. termofile *Thermodesulfobacterium mobile*, *Thermodesulforhabdus norvegicus* [Wolicka i in. 2009; Magot 2005].

Do podstawowych czynników środowiskowych wpływających na proces biologicznej degradacji związków ropopochodnych należą m.in.: dostępność odpowiednich donorów i akceptorów elektronów, pH, temperatura, budowa chemiczna węglowodorów oraz ich stężenie. Biodegradacja związków ropopochodnych jest procesem wieloetapowym, zachodzącym zarówno w warunkach tlenowych, jak i beztlenowych, z udziałem wielu różnych grup mikroorganizmów. Nie istnieją pojedyncze gatunki mające zdolność biodegradacji wszystkich składników obecnych w ropie naftowej i jej produktach. Optymalna biodegradacja węglowodorów naftowych zależy często od synergistycznych oddziaływań metabolicznych wielu grup bakterii, m.in. bakterii fermentacyjnych i bakterii redukujących siarczany oraz archeonów, np. archeonów metanogennych. Każda z grup przeprowadza określony etap utleniania substratów, a produkty końcowe są metabolizowane przez następne ogniwa łańcucha pokarmowego, aż do całkowitej ich mineralizacji [Wolicka 2010].

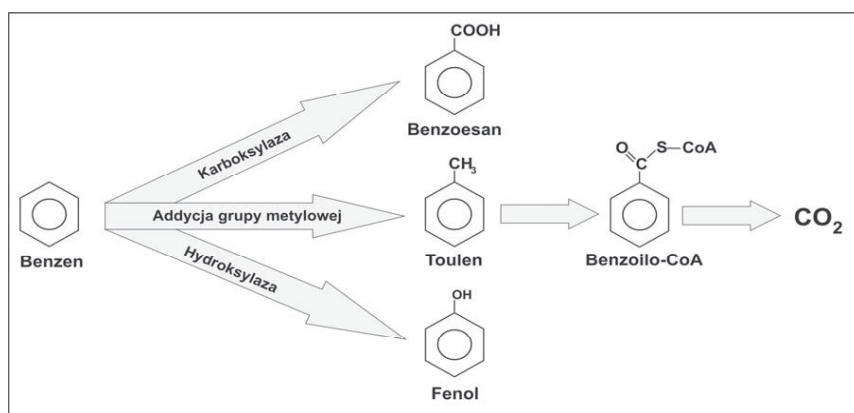
3. BIODEGRADACJA MONOPIERŚCIENIOWYCH WĘGLOWODORÓW AROMATYCZNYCH W WARUNKACH SELEKCJI BRS

3.1. Biodegradacja benzenu

Zdecydowana większość mikroorganizmów zaliczanych do grupy bakterii redukujących siarczany nie jest zdolna do całkowitej degradacji benzenu [Dou i in. 2010]. Chemiczna stabilność struktury pierścienia aromatycznego sprawia, że katabolizm węglowodorów aromatycznych sprowadza się jedynie do reakcji transformacji tych związków. Podczas tych procesów pierścień aromatyczny nie podlega rozszczepieniu, a przekształceniom ulegają jedynie podstawniki pierścienia. W szlaku transformacji (np. reakcje utleniania/redukcji, reakcje dekarboksylacji, usunięcie z podstawników pierścienia atomów siarki i azotu) powstaje kilka produktów, m.in. benzoesan, toluen, fenol, które następnie stanowią substraty dla innej grupy mikroorganizmów przeprowadzających degradację pierścienia [Guzik i in. 2010; Foght 2008]. Degradację benzoesanu opisano dotychczas tylko u szczepu *Desulfonema magnum* i przebiega ona wg równania [Coschigano i Young 1997]:



Mikrobiologiczna zdolność do utleniania związków trudno biodegradowalnych, takich jak benzen, zależy od synergistycznych oddziaływań mieszanych kultur mikroorganizmów zaliczanych do rodziny *Desulfobacteriaceae* [Chen i in. 2010]. Kluczowym metabolitem w degradacji benzenu (rys. 1) przez te mikroorganizmy jest benzoilo-CoA, który następnie, w toku przemian metabolicznych, zostaje przekształcony w CO_2 [Chakraborty i Coates 2004].

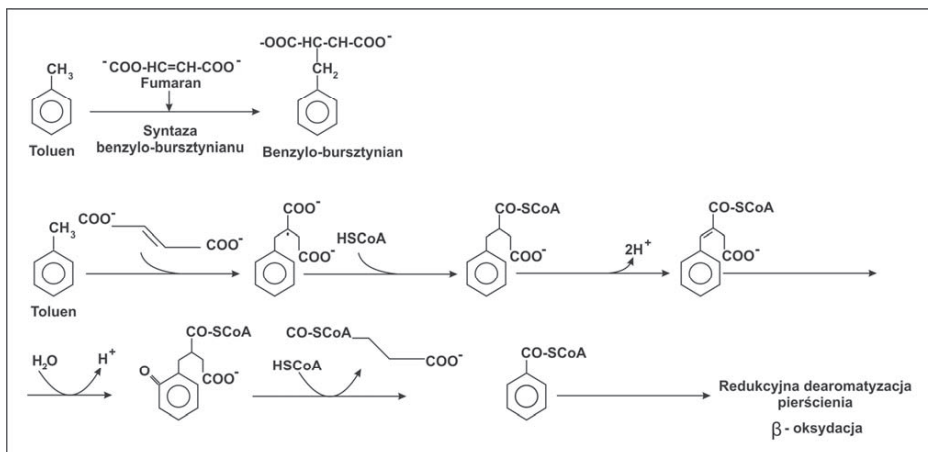


Rys. 1. Uproszczony szlak mikrobiologicznej degradacji benzenu [wg Chakraborty i Coates 2004]

Fig. 1. Simplified pathway of microbial degradation of benzene [according to: Chakraborty and Coates 2004]

3.2. Biodegradacja toluenu

Z badań dotyczących udziału mikroorganizmów w biodegradacji BTEX wynika, że najlepiej poznane i szczegółowo opisane są szlaki biodegradacji toluenu. Mikroorganizmy zaliczane do grupy bakterii redukujących siarczany są zdolne do całkowitej mineralizacji toluenu, z wydzieleniem CO_2 . Znanych jest wielu przedstawicieli BRS, wykorzystujących toluen jako donor elektronów, m.in. *Desulfobacterium cetonicum* [Harms i in. 1999], *Desulfobacula toluolica* [Beller i Spormann 1997; Rabus 2005]. Te mikroorganizmy uzyskują energię wskutek utleniania toluenu, wykorzystując siarczany (VI) jako akceptor elektronów. Pierwszym etapem katabolizmu toluenu jest addycja fumaranu do grupy metylowej węglowodoru z utworzeniem benzylo-bursztynianu (rys. 2). Reakcję tę katalizuje syntaza benzylo-bursztynianu, enzymu bardzo wrażliwego na tlen i podlegającego silnej inhibicji przez analogi substratu takie jak: alkohol benzylový, benzaldehyd. Enzym ten zawiera w centrum aktywnym rodnik glicynowy i katalizuje powstanie rodnika benzylového przez odłączenie atomu wodoru od grupy metylowej toluenu. Utlenianie benzylo-bursztynianu do benzoilo-CoA (rys. 1), który jest głównym i ostatnim aromatycznym metabolitem beztlenowej degradacji toluenu, przebiega szlakiem analogicznym do β -oksydacji kwasów tłuszczowych [Leuthner i Heider 2000]. Reakcja dearomatyzacji pierścienia polega na jego redukcji do cykloheksa-1,5-dien-1-karboksy-CoA przez reduktazę benzoilo-CoA. Produkt redukcji benzoilo-CoA podlega następnie hydratacji i dehydrogenacji. W szlaku reakcji β -oksydacji substrat początkowej reakcji aktywacji węglowodoru – fumaran, zostaje zregenerowany [Rabus 2005].

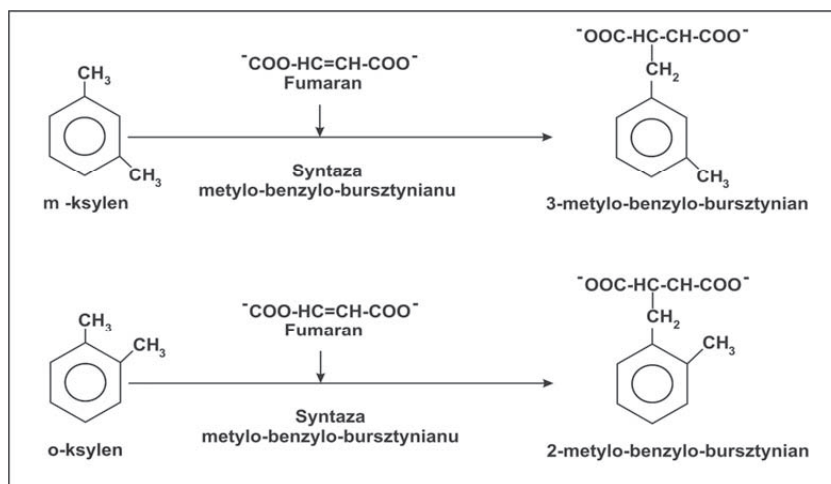


Rys. 2. Szlak mikrobiologicznej degradacji toluenu opisany u *Desulfobacula toluolica* [wg Rabus 2005]

Fig. 2. Pathway of microbial degradation of toluene as described in *Desulfobacula toluolica* [according to: Rabus 2005]

3.3. Biodegradacja ksylenu

Bakterie redukujące siarczany mają zdolność utleniania jedynie dwóch izomerów meta- i orto-ksylenu. Proces biodegradacji tego związku chemicznego przebiega w dwóch etapach. Kluczowym etapem mikrobiologicznej degradacji ksylenu, podobnie jak utleniania toluenu, jest reakcja aktywacji węglowodoru przez addycję fumaranu do grupy metylowej związku. W tej fazie aromatyczne substraty zostają przekształcone do jednego centralnego metabolitu – benzoilo-CoA, który następnie podlega redukcyjnej dearomatyzacji (rys. 3). Druga faza beztlenowej degradacji ksylenu polega na redukcji centralnych metabolitów do acyklicznych związków, które następnie zostają przekształcone do acetylo-CoA i CO₂ [Chakraborty i Coates 2004; Carmona i in. 2009; Guzik i in. 2010].



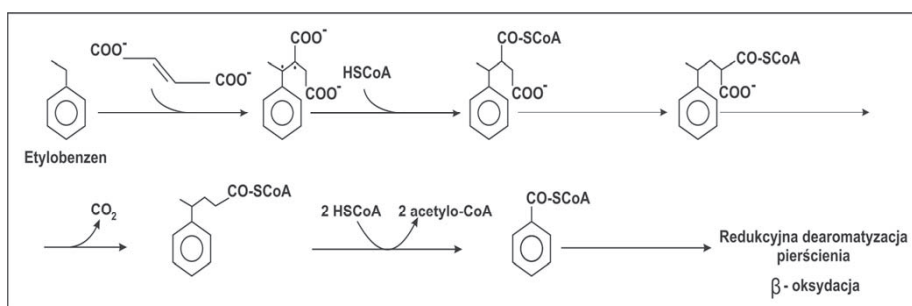
Rys. 3. Aktywacja izomerów ksylenu w reakcji addycji fumaranu do grupy metylowej węglowodoru [wg Chakraborty i Coates 2004]

Fig. 3. Activation of xylene isomers in the addition reaction of fumarate to the methyl group of hydrocarbon [according to: Chakraborty and Coates 2004]

Wśród przedstawicieli bakterii redukujących siarczany zdolnych do biodegradacji ksylenu wyróżniamy m.in. szczepy oXyS1 i mXyS1, zaliczane do rodziny *Desulfobacteriaceae* z podklasy γ -proteobakterii [Harms i in. 1999]. Badania prowadzone nad zdolnością mikroorganizmów do utleniania BTEX wykazały, że większość sulfidogennych mikroorganizmów zdolnych do biodegradacji ksylenu zachowuje tę zdolność także w przypadku toluenu i etylobenzenu.

3.4. Biodegradacja etylobenzenu

Mechanizmy mikrobiologicznej degradacji etylobenzenu są dotychczas najslabiej poznane i opisane. Degradację etylobenzenu przeprowadzaną przez bakterie redukujące siarczyn opisano jedynie u jednego przedstawiciela tej grupy – szczepu EbS7, zaliczanego do rodziny *Desulfobacteriaceae* z podklasy γ -proteobakterii [Kniemeyer i in. 2003]. Reakcja aktywacji węglowodoru następuje przez addycję fumaranu do grupy etylowej etylobenzenu z wytworzeniem fenilo-etylo-bursztynianu. Produkt ten następnie podlega reorganizacji strukturalnej pierścienia oraz procesom dekarboksylacji (rys. 4). Centralnym metabolitem transformacji fenilo-etylo-bursztynianu jest benzoilo-CoA, który podlega procesom dearomatyzacji i β -oksydacji z wytworzeniem CO_2 . Należy także wspomnieć, że szczep EbS7 wykazuje relatywne pokrewieństwo ze szczepami NaphS2 i mXyS1 mającymi zdolność do beztlenowej biodegradacji naftalenu i m-ksylenu [Harms i in. 1999].



Rys. 4. Szlak mikrobiologicznej degradacji etylobenzenu u szczepu EbS7 [wg Boll i in. 2002]

Fig. 4. Pathway of microbial degradation of ethylbenzene in EbS7 [according to: Boll et al. 2002]

4. BIOMARKERY JAKO WSKAŹNIKI BIODEGRADACJI WYBRANYCH ZANIECZYSZCZEŃ ROPOPOCHODNYCH – BTEX

Jedną z metod kontrolowania stopnia bioremediacji *in situ* terenów skażonych związkami ropopochodnymi jest monitorowanie stężenia tzw. metabolitów kluczowych. Te specyficzne produkty powstają w poszczególnych reakcjach utleniania związków organicznych, m.in. węglowodorów aromatycznych, na drodze mikrobiologicznej. Mogą one służyć jako swoiste biomarkery wskazujące na udział określonej grupy mikroorganizmów w biodegradacji zanieczyszczeń ropopochodnych. Związek chemiczny, stosowany jako swoisty biomarker, powinien spełniać określone kryteria: łatwość wykrywania wskaźnika w glebie, wodzie oraz próbkach osadów, dostarczanie informacji o substracie, którego jest produktem oraz wskazywanie na aktywność konkretnej grupy mikroorganizmów o znanym typie metabolizmu. Malejące wartości stężenia znanego zanieczyszczenia oraz podwyższone stężenie określonego związku – biomarkera, może wskazać na aktywność określonej grupy

mikroorganizmów w procesie bioremediacji *in situ* [Beller 2000]. Benzylo-bursztynian, który nie należy do związków syntetycznych, stanowi specyficzny biomarker dla katabolizmu toluenu, ksylenu i etylobenzenu, sprzężonego z oddychaniem siarczanowym mikroorganizmów [Beller 2000]. Innym wskaźnikiem udziału BRS w biodegradacji toluenu jest np. kwas 3-fenyl-1,2-butanodikarboksylowy [Elshahed i in. 2001].

5. PODSUMOWANIE

Z ostatnich doniesień wynika, że mechanizmy mikrobiologicznej degradacji monopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w warunkach beztlenowych nadal nie zostały rzetelnie poznane i opisane. Pozostaje wiele pytań, dotyczących m.in. zastosowania niektórych szczepów w metodach bioremediacji terenów skażonych ropą naftową i jej produktami. Wykorzystanie naturalnej aktywności mikroorganizmów w procesie biodegradacji monopierścieniowych węglowodorów aromatycznych wydaje się w pełni uzasadnione. Procesy biologiczne prowadzą do redukcji zanieczyszczeń na terenach związanych z wydobywaniem i eksploatacją ropy naftowej, są ponadto procesami ekologicznymi i ekonomicznymi. Biodegradacja BTEX w warunkach beztlenowych jest związana z przekazaniem elektronów na ostateczny akceptor elektronów, który stanowią m.in. jony siarczanowe, oraz prowadzi do utworzenia centralnego metabolitu – benzoilo-CoA. Końcowym produktem szlaku przemian metabolicznych są związki nietoksyczne, takie jak CO₂ i H₂O.

Zanieczyszczenia ropą naftową i produktami ropopochodnymi występują często na dużych głębokościach, ok. 30 m poniżej poziomu terenu, przez co zmniejszają przepuszczalność gruntów dla tlenu atmosferycznego, a tym samym wykluczają wykorzystanie biologicznych metod bioremediacji prowadzonej w warunkach tlenowych. Z tego powodu, coraz częściej zwraca się uwagę na możliwość zastosowania sulfidogennych mikroorganizmów, m.in. bakterii redukujących siarczany, w procesie beztlenowego usuwania zanieczyszczeń ropopochodnych.

Badania związane z biodegradacją monopierścieniowych węglowodorów aromatycznych są prowadzone w pracowni Geomikrobiologicznej na Wydziale Geologii UW i finansowane są w ramach grantu BST IGMiP-25-2011.

PIŚMIENNICTWO

- BELLER H. R., SPORMANN A. M. 1997. Anaerobic activation of toluene and o-xylene by addition to fumarate in denitrifying strain T. J. Bacteriol. 179: 670–676.
- BELLER H. R. 2000. Metabolic indicators for detecting in situ anaerobic alkylbenzene degradation. Biodegradation 11: 125–139.

- BOLL M., FUCHS G., HEIDER J. 2002. Anaerobic oxidation of aromatic compounds and hydrocarbons. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 6: 604–611.
- CARMONA M., ZAMARRO M.T., BLAZQUES B., DURANTE-RODRIGUEZ G., JUAREZ J. F., VALDERRAMA J.A., BARRAGAN M.J.L., GARCIA J.L., DIAZ E. 2009. Anaerobic catabolism of aromatic compounds: a genetic and genomic view. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 73: 71–133.
- CHAKRABORTY R., COATES J. D. 2004. Anaerobic degradation of mono-aromatic hydrocarbons. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 64: 437–446.
- CHEN L., LE GALL J., XAVIER A. V. 1994. Purification, characterization and properties of an NADH oxidase from *Desulfovibrio vulgaris* (Hildenborough) and its coupling to adenyl phosphosulfate reductase. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 203: 839–844.
- CHEN K. F., KAO CH. M., CHEN CH. W., SURAMPALLI R.Y., LEE M.S. 2010. Control of petroleum-hydrocarbon contaminated groundwater by intrinsic and enhanced bioremediation. *J. Environ. Sci.* 22: 846–871.
- COSCHIGANO P. W., YOUNG L. Y. 1997. Identification and sequence analysis of two regulatory genes involved in anaerobic toluene metabolism by strain T1. *Appl Environ Microbiol.* 63: 652–660.
- DOU J., DING A., LIU X., DU Y., DENG D., WANG J. 2010. Anaerobic benzene biodegradation by a pure culture of *Bacillus cereus* under nitrate reducing conditions. *J. Environ. Sci.* 22: 709–715.
- DUA M., SINHG A., SUTHUNATHAN N., JOHRI A. K. 2002. Biotechnology and bioremediation: successes and limitations. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 59: 143–152.
- ELSHAHED M.S., GIEG L.M., MCINERNEY M.J., SUFLITA J.M. 2001. Signature metabolites attesting to the in situ attenuation of alkylbenzenes in anaerobic environments. *Environ Sci Technol.* 35: 682–689.
- FAUQUE G., LEGALL J., BARTON L.L. 1991. Sulfate-reducing and sulfur reducing bacteria. W: Shively J.M.I. Barton L.L. (red.). Variations in autotrophic life. Academic Press Ltd, London: 271–337
- FOGHT J. 2008. Anaerobic biodegradation of aromatic hydrocarbons: pathways and prospect. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* 15: 93–120.
- FUKUI M., HARMS G., RABUS R., SCHRAMM A., WIDDEL F., ZENGLER K., BOREHAM C., WILKES H. 1999. Anaerobic degradation of oil hydrocarbons by sulfate reducing and nitrate-reducing bacteria. W: Brylinsky M., Johnson-Green P. (red.) Microbial Biosystems: New Frontiers. Proceedings of the 8th International Symposium on Microbial Ecology. Atlantic Canada Society for Microbial Ecology, Halifax, Canada.
- GUZIK U., WOJCIESZYŃSKA D., HUPERT-KOCUREK K. 2010. Mikrobiologiczny rozkład związków aromatycznych w warunkach anoksji. *Post. Mikrobiol.* 49: 217–226.
- HANSEN T. A. 1993. Carbon metabolism of sulfate-reducing bacteria. W: Odom J. J. M., Singleton R. The sulfate-reducing bacteria Contemporary Perspectives. Springer-Verlag, New York: 21–40.

- HAO O. J., CHEN J. M., HUANG L., BUGLASS R. L. 1996. Sulfate-reducing bacteria. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 26: 155–187.
- HARMS G., ZENGLER K., RABUS R., AECKERSBERG F., MINZ D., ROSSELLO-MORA R., WIDDEL F. 1999. Anaerobic oxidation of o-xylene, m-xylene and homologous alkylbenzenes by new types of sulphate-reducing bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 65: 999–1004.
- KNIEMEYER O., FISCHER T., WILKES H., GLOCKNER F., WIDDEL F. 2003. Anaerobic degradation of ethylbenzene by a new type of marine sulphate-reducing bacterium. *Appl. Environ. Microbiol.* 69: 760–768.
- LEUTHNER B., HEIDER J. 2000. Anaerobic toluene catabolism of *Thauera aromaticca*: the *bbs* operon codes for enzymes of β -oxidation of the intermediate benzylsuccinate. *J. Bacteriol.* 182: 272–277.
- MAGOT M. 2005. Indigenous microbial communities in oil fields. W: Ollivier B., Magot M. (eds) *Petroleum Microbiology*. American Society for Microbiology, Washington.
- MIGASZEWSKI Z., GAŁUSZKA A. 2007. *Podstawy geochemii środowiska*. Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa.
- POSTGATE J. R. 1984. *The sulfate reducing bacteria*. Cambridge University Press, Cambridge.
- RABUS R. 2005. Biodegradation of hydrocarbons under anoxic conditions. W: Ollivier B., Magot M. (red.) *Petroleum Microbiology*. American Society for Microbiology, Washington.
- SURYGAŁA J. 2006. *Petroleum of specificity processing products*. WNT, Warszawa.
- WOLICKA D. 2008. Petroleum – an environment of the microorganisms isolation. Scientific-technical conference Oil, gas and carbonate rocks of southern Poland. Czarna 16–18 April: 44.
- WOLICKA D., BORKOWSKI A. 2008. Geomicrobiology petroleum and reservoirs water. Conference materials, Petroleum, gas and carbonate rocks of southern Poland. Czarna 16–18 April: 45.
- WOLICKA D., BORKOWSKI A., BORSUK P., KOWALCZYK P. 2009. Identification of sulphate reducing bacteria isolated from crude oil. IMO 24th International Meeting on Organic Geochemistry, Bremen: 493.
- WOLICKA D. 2010. Mikroorganizmy występujące w ropie naftowej i w wodach złożowych. *Nafta – Gaz* 66: 267–273.