

**ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ****БИОТЕХНОЛОГИЯ (В ТОМ ЧИСЛЕ БИОНАНОТЕХНОЛОГИИ)****ВЫДЕЛЕНИЕ И СКРИНИНГ БАКТЕРИЙ РОДА *Bacillus* –  
ПРОДУЦЕНТОВ БИОСУРФАКТАНТОВ****Сайлиев Мириод Уктамович**

базовый докторант  
Института микробиологии  
Академии наук Республики Узбекистан,  
Республика Узбекистан, г. Ташкент  
E-mail: [shodliklaramiri90@gmail.com](mailto:shodliklaramiri90@gmail.com)

**Вохидов Хушнуд Толиб угли**

стажер-исследователь  
Института микробиологии  
Академии наук Республики Узбекистан,  
Республика Узбекистан, г. Ташкент  
E-mail: [yohidov.x@gmail.com](mailto:yohidov.x@gmail.com)

**Алимова Барно Хасановна**

канд. биол. наук, докторант  
Института микробиологии  
Академии наук Республики Узбекистан,  
Республика Узбекистан, г. Ташкент  
E-mail: [balimova@list.ru](mailto:balimova@list.ru)

**Пулатова Озодахон Мансуровна**

канд. биол. наук, ст. науч. сотр.  
Института микробиологии  
Академии наук Республики Узбекистан,  
Республика Узбекистан, г. Ташкент  
E-mail: [opulatova@inbox.ru](mailto:opulatova@inbox.ru)

**Махсумханов Ахмаджан Аъзамханович**

канд. биол. наук, ст. науч. сотр.,  
завлаб Института микробиологии  
Академии наук Республики Узбекистан,  
Республика Узбекистан, г. Ташкент  
E-mail: [amakhsum@mail.ru](mailto:amakhsum@mail.ru)

**Давранов Кахрамон Давранович**

докт. биол. наук, проф.,  
директор Института микробиологии  
Академии наук Республики Узбекистан,  
Республика Узбекистан, г. Ташкент  
E-mail: [k\\_davranov@mail.ru](mailto:k_davranov@mail.ru)

## ISOLATION AND SCREENING OF BACTERIA OF THE GENUS *Bacillus* - PRODUCERS OF BIOSURFACTANTS

**Mirshod Sayliyev**

*PhD-student  
of the Institute of Microbiology,  
Uzbekistan Academy of Sciences,  
Republic of Uzbekistan, Tashkent*

**Khushnut Bohidov**

*Trainee researcher  
of the Institute of Microbiology,  
Uzbekistan Academy of Sciences,  
Republic of Uzbekistan, Tashkent*

**Barno Alimova**

*Candidate of biological sciences,  
senior researcher of the Institute of Microbiology,  
Uzbekistan Academy of Sciences,  
Republic of Uzbekistan, Tashkent*

**Ozodakhon Pulatova**

*Candidate of biological sciences,  
senior researcher of the Institute of Microbiology,  
Uzbekistan Academy of Sciences,  
Republic of Uzbekistan, Tashkent*

**Akhmadzhan Makhsumkhanov**

*Candidate of biological sciences, senior researcher,  
head of laboratory of the Institute of Microbiology,  
Uzbekistan Academy of Sciences,  
Republic of Uzbekistan, Tashkent*

**Kakhramon Davranov**

*Doctor of Science, Prof.,  
Director of the Institute of Microbiology,  
Uzbekistan Academy of Sciences,  
Republic of Uzbekistan, Tashkent*

### АННОТАЦИЯ

С целью выделения активных штаммов микроорганизмов, продуцентов биосурфактантов, использованы образцы нефте-шламов и замазученных сточных вод Бухарского НПЗ и нефтегазовые скважины Кашкадарьинской области. В результате выделены в чистую культуру 29 штаммов бактерий, относящихся к роду *Bacillus*. Совокупность данных, полученных при первичном скрининге продукции биосурфактанта показала, что наиболее активными продуцентами биосурфактантов являются штаммы BS H6/4/1 и BS 9/2B. В результате подбора оптимальных источников углерода и азота установлено, что уровень продукции биосурфактанта штаммами BS H6/4/1 и BS 9/2B достигает максимального значения на 48 час культивирования и составляет 1.4 и 0.95 г/л сухого липо-пептидного биосурфактанта с индексом эмульгирования более 50%. Полученные данные позволяют заключить, что бактерии BS H6/4/1 и BS 9/2B, выделенные из местных нефтезагрязненных субстратов, обладают значительным потенциалом в качестве перспективных продуцентов биосурфактантов для разработки средств биоремедиации нефтезагрязнений.

### ABSTRACT

In order to isolate active strains of microorganisms, producers of biosurfactants, oil sludge and smeared wastewater samples of the Bukhara refinery plant and oil-gas wells of Kashkadarya region were used. As a result, 29 strains of bacteria belonging to the genus *Bacillus* have been isolated in pure culture. The totality of data obtained during the primary screening of biosurfactant production showed that the most active producer strains of biosurfactants are BS H6/4/1 and BS 9/2B. As a result of the selection of optimal sources of carbon and nitrogen, it was found that the level of biosurfactant production by strains BS H6/4/1 and BS 9/2B reaches its maximum value at 48 hours of cultivation and amounts to 1.4 and 0.95 g/l of dry lipopeptide biosurfactant with an emulsification index of more than 50%. The data obtained allow us to conclude that the bacteria BS H6/4/1 and BS 9/2B, isolated from local oil-contaminated substrates, have significant potential as promising producers of biosurfactants for the development of means for bioremediation of oil pollution.

**Ключевые слова:** Bacillus, штамм, биосурфактант, бактерия, липопептиды, биоремедиация.

**Keywords:** Bacillus, strain, biosurfactant, bacteria, lipopeptides, bioremediation.

### Введение

Поверхностно-активные вещества (ПАВ) представляют собой амфифильные соединения, снижающие поверхностное и межфазное натяжение на границе раздела жидкостей разной полярности [1]. ПАВ используются в качестве чистящих и моющих средств, диспергаторов, увлажнителей, эмульгаторов, при биоремедиации загрязненных нефтью участков [2-4]. Благодаря антимикробной и противовирусной активности, они нашли применение для борьбы с микробной и вирусной инфекцией растений. В ряде исследований показана эффективность применения ПАВ в составе лекарственных препаратов противоопухолевого действия [5, 6]. Большинство ПАВ получают химическим синтезом [7], однако в последнее время их производство стало одним из перспективных направлений развития «зеленых» технологий 21 века [9]. Было доказано, что микробные БС, обладают рядом преимуществ, таких как биоразлагаемость, функционирование в широком диапазоне pH, температуры, устойчивость к высоким концентрациям NaCl, более высокой селективностью и стабильностью, и также проявляют антибактериальную и антифунгальную активность [8]. Вместе с тем, продукция микробных биосурфактантов может проводиться в процессе управляемой ферментации микроорганизмов - продуцентов на относительно простых по составу минеральных средах и доступных источниках углерода. Это позволяет увеличить выход биосурфактантов без значительных материальных и энергетических затрат. Кроме того, микробные продукты более безопасны для окружающей среды по сравнению с химическими ПАВ [10], и могут их заменить во многих областях промышленности [11].

Продуценты биосурфактантов выявлены среди микроорганизмов разных таксономических групп. Так, низкомолекулярные БС гликолипидной природы (рамнолипиды, трегалолипиды, софоролипиды, липопептиды) способны синтезировать бактерии, относящиеся к роду *Pseudomonas* [10, 12], *Acinetobacter* [13], *Rhodococcus* [14], *Candida* [15] и *Bacillus* [16]. Биосинтез высокомолекулярных БС (гликопротеины, полисахариды, липопротеины) характерны для бактерий, относящихся к роду *Acinetobacter* [17, 18]. Одной из наиболее перспективных групп биосурфактантов являются липопептиды, основными продуцентами которых являются бактерии *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens* и *Bacillus licheniformis* [19]. Одним из наиболее известных и перспективных бактериальных биосурфактантов липопептидной природы является сурфактин, представляющий собой циклический липопептид, состоящий из гидрофильного пептидного кольца из семи аминокислот и гидрофобной цепи  $\beta$ -гидроксигирной кислоты длиной в 12–16 атомов углерода. Благодаря своим уникальным биологическим свойствам он широко используется для устранения органических и неорганических загрязнителей при биоремедиации

участков, загрязненных нефтью, и в процессе повышения нефтеотдачи микроорганизмами [20].

Целью настоящего исследования является выделение и скрининг из нефтезагрязненных участков Бухарского и Кашкадарьинского нефтеперерабатывающего предприятий бактерии рода *Bacillus* эффективных продуцентов биосурфактантов.

### Материалы и методы

Для выделения бактерий рода *Bacillus*, продуцирующих биосурфактанты, использовали нефте-шламы и замазученные сточные воды Бухарского НПЗ и нефтегазовые скважины Кашкадарьинской области. Выделение проводили методом накопительных культур на питательных средах триптон соевый бульон (ТСБ) (HiMedia, Индия) разбавленный в дистиллированной воде в соотношении (1:1) и минеральную среду МСМ (минимальная солевая среда) [21] с 1% нефтью. Колбы инкубировали в течение 6 суток при температуре  $30 \pm 2$  °C на качалке (60 об/мин). Обогащенную культуру высевали на агаризованные среды методом серийных разведений. Чашки инкубировали при  $30 \pm 2$  °C в течение 48-96 часов.

Культивирование чистых штаммов бактерий рода *Bacillus* проводили на минеральной среде МСМ с глюкозой или глицерином в качестве источников углерода. Штаммы выращивали в пробирках в среде объемом 5 мл при температуре 30 °C в течении 48 час. Культуральную жидкость центрифугировали при 12000 об/мин в течении 15 мин и отбирали супернатант для определения внеклеточных биосурфактантов.

Скрининг на внеклеточную продукцию биосурфактантов проводили по нескольким общепринятым тестам. Тест на растекание нефти проводили в чашке Петри с 20 мл дистиллированной воды, на поверхность которой наносили 5 мл нефти, затем сверху наносили 30 мкл супернатанта. Диаметр прозрачной зоны на поверхности нефти измеряли и сравнивали с отрицательным контролем, в качестве отрицательного контроля служила дистиллированная вода. Тест на СТАВ-агаре и гемолитическую активность проводили по методу Госвани и Дека [23]. Индекс эмульгирования (ИЭ), показывающий способность штаммов эмульгировать углеводороды в водной среде, определяли методом Купера и Голденберга [24].

Продукцию биосурфактантов наиболее активных штаммов изучали в динамике роста и развития штаммов в течении 72-96 часов. В качестве инокулята использовали активные штаммы бактерий, предварительно выращенные на ТСБ при  $30 \pm 2$  °C и pH 7,0 в течение 24 ч. В питательной среде МСМ, где в качестве источников углерода использовали глюкозу и глицерин, а источниками азота служили мочевины и  $\text{NaNO}_3$ . В колбы Эрленмейера объемом 250 мл со 100 мл среды вносили, 2-4% инокулята, культивирование проводили на круговой качалке при 150 об/мин,

при 30 °С, рН 7,0-7,5. Пробы отбирали каждые 24 ч., супернатант отделяли центрифугированием.

Для экстракции биосурфактанта супернатант подкисляли 6N HCl до рН 2–4, после чего выдерживали 14–18 часов при температуре 4 °С для усиления осаждения биосурфактанта. Осадок отделяли центрифугированием при 12000 об/мин, затем растворяли в 10 мМ фосфатном буфере рН=7,0 и экстрагировали несколько раз равным объемом смеси хлороформ:метанол в соотношении (2:1). Растворитель удаляли на роторном испарителе при температуре 45 °С. Осадки неочищенных биосурфактантов высушивали при 110 °С в течение 24 часов и взвешивали. В результате был получен неочищенный БС коричневого цвета.

### Результаты и их обсуждения

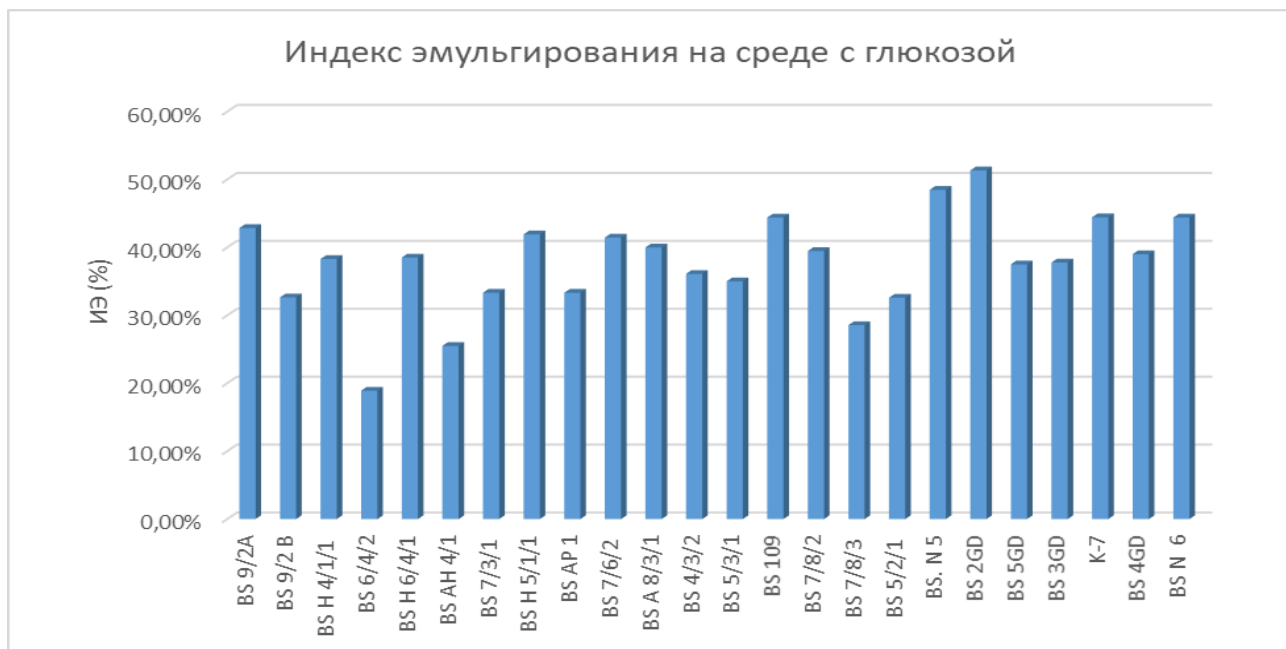
Производство микробных биосурфактантов является дорогостоящим процессом в связи с небольшим выходом продукта, трудоемкостью и сложностью методов их выделения. Улучшение эффективности производства можно достичь за счет применения соответствующего дешевого сырья, оптимизации условий культивирования, подбора оптимальных методов выделения биосурфактантов, и отбора высокоактивных штаммов продуцентов [24, 25].

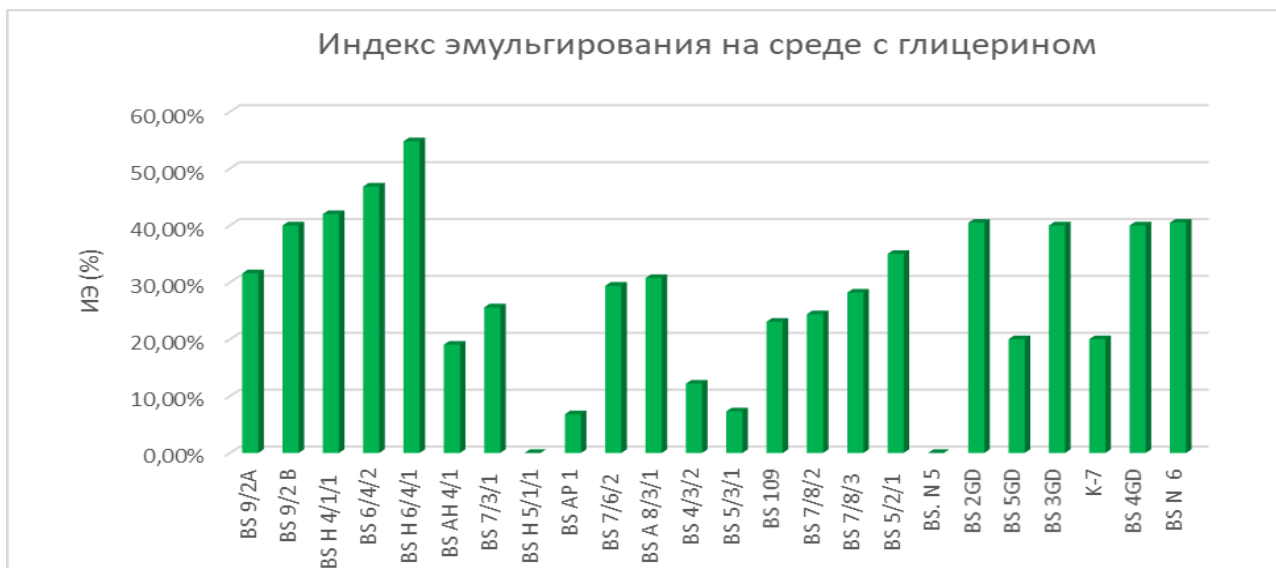
В качестве субстратов, предполагающих наиболее вероятную заселенность бактериями рода *Bacillus*, продуцирующими биосурфактанты, нами были использованы нефте-шламы и замазученные сточные воды вышеуказанных предприятий. Выделение бактерий проводили по исходной характеристике

(колониальная морфология, окраска по Граму). Всего выделено 29 штамма относящихся к роду *Bacillus*.

Уровень продукции микробных биосурфактантов существенно зависит от источника углерода. Так, микроорганизмы эффективно синтезируют биосурфактанты при росте на липофильных субстратах, например, углеводородах. Однако, у бактерий рода *Bacillus* способность использовать углеводороды в качестве источника углерода встречаются крайне редко. В связи с этим, способность бацилл синтезировать биосурфактанты была изучена на среде, где в качестве источника углерода использовали глицерин или глюкозу. Irfan Ali Phulpoto и др. показали, что лучшими углеродно-азотными субстратами для биосинтеза биосурфактанта для штамма *Bacillus nealsonii* S2MT, являлся 2% глицерин и 0,1% NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> [26]. Исследования по подбору питательной среды, где в качестве источника углерода использовали глицерин, также проведены со штаммом *Bacillus subtilis* #309, где выход биосурфактанта составил 2,8 г/л [27].

При первичном скрининге штаммов по ИЭ установлено, что практически все 29 выделенных штаммов бактерий синтезировали биосурфактанты на среде МСМ и с глюкозой, и с глицерином. Значение ИЭ на среде с глюкозой варьировало от 25 до 51%, для штаммов BS 9/2A, BS H5/1/1, BS 7/6/2, BS 10/9, BS N6 значения ИЭ составляло более 40, а максимальный ИЭ наблюдался для штаммов BS 2GD и BS №5 и составил 51,35 и 48,4 % соответственно. При выращивании штаммов на глицерине максимальный ИЭ составил 40% и наблюдался для штаммов BS 9/2Б, BS H4/1/1, BS H6/4/2, BS H6/4/1, BS 2GD, BS 4GD, BS N6 (рис. 1).

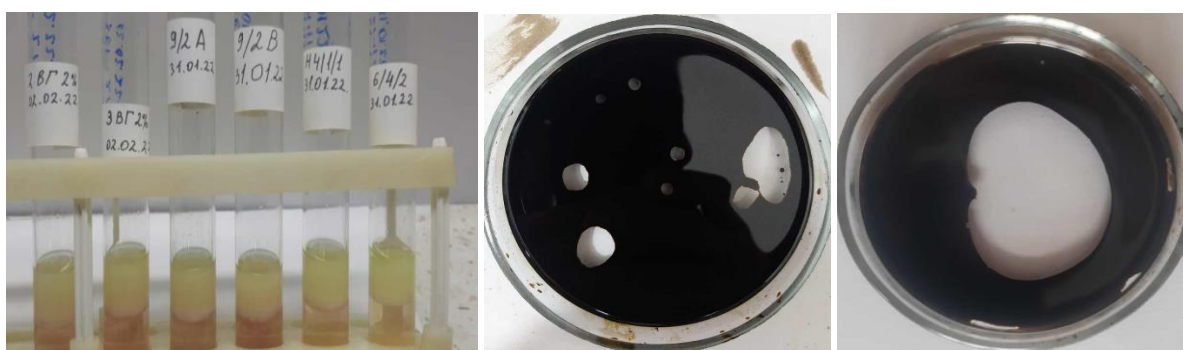




**Рисунок 1. Скрининг бактерий рода *Bacillus* на питательной среде с глюкозой и глицерином**

Среди бактериальных продуцентов биосурфактантов бактерии рода *Bacillus* отличаются способностью создавать наиболее низкое межфазное натяжение между углеводородами и водной фазой, что необходимо для мобилизации нефти. При качественном скрининге 29 штаммов с использованием тестов на вытеснение нефти, у 7 штаммов зона вытеснения нефти варьировала от 5 до 30 мм, максимальная зона вытеснения нефти наблюдалась для штаммов BS H6/4/1 и BS 9/2A и составила 30 и 27 мм, соответственно (рис. 2). Следует отметить, что для штамма BS H6/4/1 вытеснение нефти наблюдалось уже через 24 часа культивирования.

Анионные биосурфактанты, взаимодействуя с СТАБ и метиленовым синим, образуют нерастворимую ионную пару, что приводит к образованию синего кольца. В этой связи СТАБ-агар используется при скрининге бактерий на продукцию биосурфактантов. Так, при высеве штаммов на СТАБ-агар зона образования синего кольца составила более 1 мм практически для всех штаммов, для штаммов BS H6/4/2, BS 9/2 A, BS 9/2B, BS 7/6/2, BS 7/8/2 и BS H 4/1/1 зона окрашивания варьировала от 7 до 10 мм, максимальная зона наблюдалась для штамма BS H6/4/1 и составила 13 мм. Кроме того, при определении гемолитической активности штамма BS H6/4/1 зона лизиса кровяного агара составила 2,5 см.



**Рисунок 2. Скрининг по индексу эмульгирования и анализу вытеснения нефти штаммами бактерий рода *Bacillus*. BS H4/1/1, BS 5/1/1, BS 9/2, BS 6/4/1**

Таким образом, в результате первичного скрининга нами было отобрано 7 наиболее активных штаммов бактерий, относящихся к роду *Bacillus* и способных синтезировать биосурфактант.

Продукцию биосурфактанта наиболее активных штаммов изучали в динамике роста и развития в течение 72-96 часов, активные штаммы бактерий выращивали на среде МСМ, где в качестве источника углерода использовали 2% глицерин, а в качестве азота мочевины или  $\text{NaNO}_3$ .

Экспериментально установлено, что на среде МСМ с 2 % глицерином, где в качестве источника

азота использовали мочевины, биосинтез биосурфактанта начинается через 24 часа. Максимальный биосинтез биосурфактанта наблюдался через 48 часов культивирования для штаммов BS H6/4/1, BS H6/4/2, BS 9/2 A и BS 9/2B с выходом экстрагированного биосурфактанта 1.4, 0.705, 0.95 и 0.87 г/л, соответственно, при биомассе клеток 4.6, 3.5, 1.7 и 2.0 г/л. При этом ИЭ в супернатанте составлял более 50%. В то же время, ИЭ не детектировался в биомассе штаммов BS H6/4/1, BS H6/4/2, BS H4/1/1 ИЭ, тогда как в биомассе штаммов BS 9/2 A и BS 9/2B в ОК через 72 часа культивирования ИЭ составил 14.2 и 48.1,

соответственно (табл.1). Максимальный выход биосурфактанта на среде с глицерином и мочевиной наблюдался через 48 час культивирования для штамма BS H6/4/1, и составил 1.4 г/л с ИЭ более 50%. По литературным данным, штаммы бактерий

синтезирующие биосурфактанты, ИЭ которых более 50% считаются хорошими продуцентами биосурфактантов [28]. Через 72 часа культивирования в динамике роста наблюдалось снижение количества бактериальной биомассы и выход биосурфактанта.

Таблица 1.

Биосинтез биосурфактанта на среде с глицерином и мочевиной

№ п/п	Штаммы	Время культивирования, час					
		48			72		
		Индекс эмульгирования			Индекс эмульгирования		
		Биомасса, (г/л)	Супернатант, (%)	Выход БС, (г/л)	Биомасса (г/л)	Супернатант, (%)	Выход БС (г/л)
1	BS H 6/4/1	4.6	51.7	1.4	1.3	48.2	0.810
2	BS H6/4/2	3.5	51.7	0.705	1.3	51.8	0.405
3	BS 9/2 B	1.7	58.6	0.95	1.2	50	0.303
4	BS 7/6/2	1.3	10.7	0.35	0.8	35.7	0.210
5	BS 7/8/2	3.2	17.8	0.48	2.6	14.2	0.220
6	BS 9/2 A	2.0	58.6	0.87	0.8	53.5	0.75
7	BS H 4/1/1	1.7	21.4	0.6	1.1	0	0.495

Следует отметить, что снижение уровня биомассы после высокой продукции биосурфактанта показано для *Virgibacillus salarius* (KSA-T) [29] и *Pseudomonas aeruginosa* АК6У [30]. При использовании в качестве источника азота  $\text{NaNO}_3$ , значение ИЭ было невысоким по сравнению с мочевиной и не превышало 10 - 18%.

Таким образом, из образцов нефте-шламов и замасленных сточных вод выделены ряд бактерий рода *Bacillus*, продуцирующие биосурфактанты. В результате подбора оптимальных источников углерода и азота установлено, что уровень продукции

биосурфактанта штаммами BS H6/4/1 и BS 9/2B достигает максимального значения на 48 час культивирования и составляет 1.4 и 0.95 г/л сухого липопептидного биосурфактанта с ИЭ более 50%. Полученные данные позволяют заключить, что штаммы бактерий BS H6/4/1 и BS 9/2B, выделенные из местных нефтезагрязненных источников, обладают значительным потенциалом в качестве перспективных продуцентов биосурфактантов для разработки средств биоремедиации нефтезагрязнений.

#### Список литературы:

- Kamal M.S. A Review of Gemini Surfactants: Potential Application in Enhanced Oil Recovery // J. Surfactants Deterg. – 2016. –V.19. –P. 223-236.
- Sar P., Ghosh A., Scarso A., Saha B. Surfactant for better tomorrow: Applied aspect of surfactant aggregates from laboratory to industry. //Res. Chem. Intermed. –2019. –V.45. –P.6021-6041.
- Tripathy D.B., Mishra A., Clark J., Farmer T. Synthesis, chemistry, physicochemical properties and industrial applications of amino acid surfactants: A review. //Comptes Rendus Chim. –2018. –V.21. –P.112-130.
- Negin C., Ali S., Xie Q. Most common surfactants employed in chemical enhanced oil recovery. //Petroleum –2017. – V. 3. –P.197-211.
- Dey G., Bharti R., Sen R., Mandal M. Microbial amphiphiles: a class of promising new-generation anticancer agents. // Drug Discov Today. –2015 –V.20(1) – P.136-46. doi: 10.1016/j.drudis.2014.09.006. Epub 2014 Sep 19.
- Mandana Ohadi, Arash Shahravan, Negar Dehghannoudeh, Toubia Eslaminejad, Ibrahim M Banat, Gholamreza Dehghannoudeh. Potential Use of Microbial Surfactant in Microemulsion Drug Delivery System: A Systematic Review Drug Design //Development and Therapy –2020. –V.14. –P.541-550.
- Wang J., Nguyen A.V., Farrokhpay S. A critical review of the growth, drainage and collapse of foams. Adv. //Colloid Interface Sci. –2016. –V.228, –P.55-70.
- Soberón Chávez G. Biosurfactants: From Genes to Applications; Springer: New York, NY, USA, 2010; ISBN 3642144896.
- Abdullahi Adekilekun Jimoh, Johnson Lin //Biosurfactant: A new frontier for greener technology and environmental sustainability. //Ecotoxic. & Environm. Safety 184 (2019) 109607 <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109607>.
- Katarzyna Paraszkiwicz, Przemysław Bernat, Anna Kuśmierska, Joanna Chojniak, Grażyna Płaza // J. Environmental Management. –2018. – V. 209, –P. 65-70 <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.12.033>.

11. Sivasankar P., Suresh Kumar G. Influence of pH on dynamics of microbial enhanced oil recovery processes using biosurfactant producing *Pseudomonas putida*: Mathematical modelling and numerical simulation. *Bioresour. Technol.* – 2017. – V. 224. –P. 498-508. doi: 10.1016/j.biortech.2016.10.091.
12. Varjani S.J., Upasani V.N. // *Bioresour. Technol.* –2017. –V.232, –P.389-397.
13. Ramírez I.M., Tsaousi K., Rudden M., Marchant R., Alameda E.J., Román M.G., Banat I.M. // *Bioresour. Technol.* – 2015. –V.198. –P.231-236.
14. Cappelletti M., Presentato A., Piacenza, *Biotechnology of Rhodococcus for the production of valuable compounds.* // *J. Appl Microbiol Biotechnol.* –2020. –104. –P.8567-8594. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10861-z>
15. Hüsniye T. Yalçın, Gülşah Ergin-Tepebaşı, Ebru Uyar. Isolation and molecular characterization of biosurfactant producing yeasts from the soil samples contaminated with petroleum derivatives // *J. Basic Microbiol.* –2018. –P.1-11. doi: 10.1002/jobm.201800126.
16. Mamta Rani<sup>1</sup>, Joel T. Weadge and Suha Jabaji<sup>1</sup> T. Isolation and Characterization of Biosurfactant-Producing Bacteria from Oil Well Batteries with Antimicrobial Activities Against Food-Borne and Plant Pathogens // ORIGINAL RESEARCH published: 27 February 2020 doi: 10.3389/fmicb.2020.00064
17. Mandana Ohadi, Gholamreza Dehghan-Noudeh, Mojtaba Shakibaie, Ibrahim M. Banat, Mostafa Pournamdari, Hamid Forootanfar. Isolation, characterization, and optimization of biosurfactant production by an oil-degrading *Acinetobacter junii* B6 isolated from an Iranian oil excavation site. // *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology.* DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcab.2017.08.007>
18. Bustamante M., Durán N., Diez M.C. Biosurfactants are useful tools for the bioremediation of contaminated soil: a review // *J. Soil Science and Plant Nutrition* –2012. –V.12 (4). –V. 667-687.
19. Biniarz P., Łukasiewicz M., Janek T. Screening concepts, characterization and structural analysis of microbial-derived bioactive lipopeptides: // *A review. Crit. Rev. Biotechnol.* – 2017. –V.37. –P. 393-410.
20. Stein T. *Bacillus subtilis* antibiotics: Structures, syntheses and specific functions. // *Mol. Microbiol.* –2005. – V.56. – P. 845-857.
21. Janek T., Drzymala K., Dobrowolski A. In vitro efficacy of the lipopeptide biosurfactant surfactin - C 15 and its complexes with divalent counterions to inhibit *Candida albicans* biofilm and hyphal formation. // *Biofouling.* – 2020. –V. 36. –P 210-221.
22. Wu Y.S., Ngai S.C., Goh B.H., Chan K.G., Lee L.H., Chuah L.H. Anticancer activities of surfactin potential application of nanotechnology assisted surfactin delivery. // *Front. Pharmacol.* –2017. –V. 8. –P.761.
23. Goswami M., Deka S. Biosurfactant production by a rhizosphere bacteria *Bacillus altitudinis* MS16 and its promising emulsification and antifungal activity. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2019 Jun 1;178:285-296. doi: 10.1016/j.colsurfb.2019.03.003. Epub 2019 Mar 4. PMID: 30878803.
24. Andr Felipe da Silva, Ibrahim M. Banat, Admir Jos Giachini, Diogo Robl. Fungal biosurfactants, from nature to biotechnological product: bioprospection, production and potential applications. // *Bioprocess and Biosystems Engineering* 2021 <https://doi.org/10.1007/s00449-021-02597-5>
25. Cooper D.G., Goldenberg B.G. // *J. App. Environ. Microbiol.* –1987. –V.53. –N.2. –P. 224-233.
26. Irfan Ali Phulpoto, Zhisheng Yu, Bowen Hu, Yanfen Wang, Fabrice Ndayisenga, Jinmei Li, Hongxia Liang and Muneer Ahmed Qazi. Production and characterization of surfactin-like biosurfactant produced by novel strain *Bacillus nealsonii* S2MT and its potential for oil contaminated soil remediation. // *Microb Cell Fact.* –2020. –V.19. – P.145. <https://doi.org/10.1186/s12934-020-01402-4>.
27. Pereira J.F.B., Gudiña E.J., Costa R., Vitorino R., Teixeira J.A., Coutinho J.A.P., Rodrigues L.R. Optimization and characterization of biosurfactant production by *Bacillus subtilis* isolates towards microbial enhanced oil recovery applications. // *Fuel.* –2013. –V.111. –P. 259-268.
28. Tomasz Janek, Eduardo J. Gudiña, Xymena Połomska, Piotr Biniarz, Dominika Jama, Lígia R. Rodrigues, Waldemar Rymowicz, Zbigniew Lazar Sustainable Surfactin Production by *Bacillus subtilis* Using Crude Glycerol from Different Wastes // *Molecules.* – 2021. – V.26. – P. 3488. <https://doi.org/10.3390/molecules26123488>.
29. Elazzazy A.M., Abdelmoneim T.S., Almaghrabi O.A. Isolation and characterization of biosurfactant production under extreme environmental conditions by alkali-halo-thermophilic bacteria from Saudi Arabia. *Saudi //J. Biol. Sci.* – 2015. – V.22. – P.466-475.
30. Ismail W., Shammery S.A.L., El-Sayed W.S., Obuekwe C., El Nayal A.M., Raheem A.S.A., Al-Humam A. Stimulation of rhamnolipid biosurfactants production in *Pseudomonas aeruginosa* AK6U by organosulfur compounds provided as sulfur sources. // *Biotechnol.* – 2015.– V.7. – P. 55-63.