ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. І. МЕЧНИКОВА

Біологічний факультет

Кафедра мікробіології, вірусології та біотехнології

Кваліфікаційна робота

на здобуття ступеня вищої освіти «магістр»

на тему: «Синтез поверхнево-активних сполук біоплівковими культурами бактерій Чорного моря»

«Synthesis of surface-active compounds by biofilm cultures of Black Sea bacteria»

Виконав: студент денної форми навчання
спеціальності 091 Біологія та біохімія
Освітня програма Біологія
Луценко Анатолій Васильович

Науковий керівник:
Доктор біологічних наук, професор
Філіпова Т. О

Рецензент:
Кандидат біологічних наук, доцент
Білоконь С. В.

Рекомендовано до захисту:
Протокол засідання кафедри
№ ___від «__»_____2025 р.

Завідувач кафедри
_____Оксана ЗІНЧЕНКО

Захищено на засіданні ЕК № 5
Протокол № __від «__» _____2025 р.
Оцінка _____ /____ / _____
(за національною шкалою, шкалою ECTS, бал)
Голова ЕК
_____Ольга МАКАРЕНКО

Одеса – 2025

АНОТАЦІЯ

Кваліфікаційна робота магістра виконувалася у 2024-2025 роках у Науковому центрі з морської біології та біотехнології ОНУ імені І.І. Мечникова.

З морської води виділено 30 штамів бактерій, з яких 16 належали до грамнегативних. За даними дроп-тесту відібраний штам з високим рівнем продукції біосурфактантів, який був ідентифікований як *Alcaligenes faecalis* BS1. З супернатантів 5-денних суспензійної та біоплівкової культур *Alcaligenes faecalis* BS1 одержано 230 мг/100 мл та 262 мг/100 мл біосурфактантів, відповідно. Встановлено, що супернатант біоплівкової культури *A. faecalis* BS1 у 2-4 рази перевершує за емульгувальною активністю супернатант суспензійної культури щодо дизелю та низки органічних розчинникв. Показано, що емульсії, утворені за дії Біо-ПАР біоплівкової культури є більш стабільними. За 7 діб емульгувальний індекс знизився лише на 10-25%, проти 40-55% у разі суспензійної культури.

Дипломна робота викладена на 48 сторінках, вона містить 5 таблиць та 7 рисунків. Наведено посилання на 70 джерел літератури.

*Ключові сло*ва: біосурфактанти, *Alcaligenes faecalis* BS1, суспензійна та біоплівкова культури, дроп-тест, емульгувальна активність.

The master's qualification work was carried out in 2024-2025 at the Scientific Center for Marine Biology and Biotechnology of the I.I. Mechnikov ONU.

30 strains of bacteria were isolated from seawater, of which 16 were gram-negative. According to the drop test, a strain with a high level of biosurfactant production was selected, which was identified as *Alcaligenes faecalis* BS1. From the supernatants of 5-day suspension and biofilm cultures of *Alcaligenes faecalis* BS1, 230 mg/100 ml and 262 mg/100 ml of biosurfactants were obtained, respectively. It was established that the supernatant of the biofilm culture of A. faecalis BS1 is 2-4 times superior in emulsifying activity to the supernatant of the suspension culture with respect to diesel and a number of organic solvents. It is shown that emulsions formed under the action of Bio-Surfactants of biofilm culture are more stable. In 7 days, the emulsification index decreased by only 10-25%, compared to 40-55% in the case of suspension culture.

The thesis is presented on 48 pages, it contains 5 tables and 7 figures. References to 70 sources of literature are given.

Keywords: biosurfactants, *Alcaligenes faecalis* BS1, suspension and biofilm cultures, drop test, emulsifying activity.

ЗМІСТ

Стор.

ПРИЙНЯТІ СКОРОЧЕННЯ ТА ТЕРМІНИ ……. 4

ВСТУП…….. 5

1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ…….. 8

1.1. Класифікація біосурфактантів…… 8

1.2. Синтез біосурфактантів…….. 11

1.3. Порівняльний огляд біосинтетичних показників…… 13

1.4. Застосування біосурфактантів…… 15

1.5. Вузькі місця масштабування виробництва……. 19

1.6. Морські мікроорганізми як потенційні продуценти Біо-ПАР….. 20

2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ…….. 22

2.1 Виділення бактеріальних ізолятів та їх ідентифікація……. 22

2.2. Культивування *Alcaligenes faecalis*…….. 23

2.3. Встановлення наявності поверхнево-активних речовин та визначення емульгувальної активності супернатантів…….. 23

2.4. Виділення та кількісне визначення біосурфактантів…….. 24

3.РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ……. 26

3.1. Виділення бактеріальних ізолятів……. 26

3.2. Синтез біосурфактантів досліджуваними штамами…… 28

3.3. Емульгувальна активність супернатантів…… 29

УЗАГАЛЬНЕННЯ…….. 35

ВИСНОВКИ…… 38

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ…… 39

ПРИЙНЯТІ СКОРОЧЕННЯ ТА ТЕРМІНИ

Біо-ПАР – біологічні поверхнево-активні речовини (біосурфактанти)

ВО – відпрацьована олія

ККМ – критична концентрація міцел

ПАР – поверхнево-активні сполуки

E_X% – емульгувальний індекс

LB – Середовище Лорія-Бертані

ЕНДО – Середовище Ендо, диференційно-діагностичне середовище

МПА – м’ясо-пептонний агар

ВСТУП

Хімічні поверхнево-активні речовини (ПАР), які історично домінують на світовому ринку, синтезуються з нафтової сировини та створюють різні екологічні ризики через їхню стійкість, небіорозкладність і токсикологічний вплив на водні та наземні екосистеми [Nunes, 2022]. Їхнє накопичення в навколишньому середовищі може порушувати мікробні спільноти та потрапляти в харчовий ланцюг, впливаючи на нецільові організми, рибу, худобу та людей [Badmus et al., 2021]. Біосурфактанти – це амфіфільні сполуки, синтезовані широким спектром мікроорганізмів, які характеризуються здатністю знижувати поверхневий та міжфазний натяг між рідинами або між рідиною та твердою поверхнею. Ці природні ПАР (Біо-ПАР) привернули значну увагу завдяки своїй високій біорозкладності, низькій токсичності, біосумісності та функціональній універсальності в різних секторах, включаючи сільське господарство, біоремедіацію, харчову промисловість, косметику та фармацевтику [Boxley et al., 2023]. Їхня амфіпатична природа дозволяє їм виступати як емульгуючі, піноутворюючі, диспергуючі та антимікробні агенти, що робить їх екологічно сприйнятливими альтернативами синтетичним ПАР, отриманим з нафти [Andreolli et al., 2023].

Незважаючи на їхній потенціал, широкомасштабна комерціалізація біосурфактантів залишається обмеженою через високі виробничі витрати, складну подальшу переробку та порівняно нижчі виходи та, як наслідок, більш ніж у 100 разів вища собівартість [Shaimerdenova et al., 2024]. Усунення цих економічних і технологічних обмежень вимагає розробки економічно ефективних стратегій, серед яких: пошук нових ефективних продуцентів; генна модифікація мікроорганізмів; оптимізація процесів ферментації, виділення та очищення Біо-ПАР; використання дешевих

відновлюваних субстратів (промислові стоки, відходи харчової промисловості); твердофазна ферментація [Kugaji et al. 2025].

В останні 20-25 років в Світі стрімко зростає кількість досліджень в галузі морської біотехнології. Морські мікроорганізми є джерелом природних сполук з новими структурними характеристиками і володіють унікальними біологічними властивостями. Вони синтезують різноманітні за структурою, специфічністю та біологічною активністю вторинні метаболіти: антибіотики, протипухлинні сполуки, біосурфактанти тощо. Особливістю цих сполук є здатність проявляти не один, а декілька видів біологічної активності. Наприклад, більшість біосурфактантів володіє також антибіотичною та протипухлинною дією [Sumaiya et al., 2017; Fenical W., 2020]. Біо-ПАР необхідні мікроорганізмам для одержання поживних речовин із залишків морських макроорганізмів та продуктів їх життєдіяльності. Без біосурфактантів бактерії не можуть піддавати біодеградації токсичні хімічні речовини.

Важливим етапом вивчення морської мікробіоти стало дослідження біотичних та абіотичних структур, на поверхні яких формуються біоплівки, що представляють собою скупчення мікроорганізмів, занурених у полімерний матрикс. Показано, що у природних біоплівках, які знаходяться на ґрунті моря і на поверхні гідробіонтів, синтез біосурфактантів проходить більш інтенсивно ніж у вільно плаваючих бактерій [Carvalho et al., 2018]. Це обґрунтовує актуальність вивчення продукції Біо-ПАР біоплівковими культурами бактерій.

Чорне море є унікальною водоймою, системне дослідження мікробіоти якого почалося тільки у XXI столітті.

Враховуючи вищенаведене були визначені мета та завдання кваліфікаційної роботи.

Мета роботи – порівняння синтезу біосурфактантів суспензійними та біоплівковими культурами *Alcaligenes faecalis* BS1, вилученого з води Чорного моря.

Для досягнення цієї мети було необхідним вирішити наступні **завдання**:

1. Виділити та ідентифікувати бактерії з води Чорного моря.
2. Відібрати штам з високим рівнем продукції біосурфактантів.
3. Одержати біосурфактанти з суспензійної та біоплівкової культур відібраного штаму.
4. Дослідити емульгувальну активність Біо-ПАР суспензійної та біоплівкової культур та оцінити стабільність емульсій.

Об'єкт дослідження – здатність морських бактерій продукувати поверхнево-активні сполуки.

Предмет дослідження – продукція біосурфактантів суспензійною та біоплівковою культурами *Alcaligenes faecalis* BS1 та їх емульгувальна активність.

ВИСНОВКИ

1. З морської води виділено 30 штамів бактерій, з яких 16 належали до грамнегативних.

2. За даними дроп-тесту відібраний штам з високим рівнем продукції біосурфактантів, який був ідентифікований як *Alcaligenes faecalis* BS1.

3. З супернатантів 5-денних суспензійної та біоплівкової культур *Alcaligenes faecalis* BS1 одержано 230 мг/100 мл та 262 мг/100 мл біосурфактантів, відповідно.

4. Встановлено, що супернатант біоплівкової культури *A. faecalis* BS1 у 2-4 рази перевершує за емульгувальною активністю супернатант суспензійної культури щодо дизелю та низки органічних розчинників.

5. Показано, що емульсії, утворені за дії Біо-ПАР біоплівкової культури є більш стабільними. За 7 діб емульгувальний індекс знизився лише на 10-25%, проти 40-55% у разі суспензійної культури.

.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Галкін Б.М., Галкін М.Б, Філіпова Т.О. та ін. Біосурфактанти морських мікроорганізмів. І. Структура та функції. *Мікробіологія і біотехнологія*. 2021. № 3(53). С. 6–27 DOI: https://doi.org/10.18524/2307-4663.2021.3(53).242877
2. Галкін Б. М., Філіпова Т. О., Іваниця В. О., Гудзенко Т.В. Біоактивні вторинні метаболіти морських мікроорганізмів : монографія. Одеса: ОНУ, 2022. 221 с. http://dspace.onu.edu.ua:8080/handle/123456789/34363
3. Alizadeh-Sani M., Hamishehkar H., Khezerlou A. et al. Bioemulsifiers derived from microorganisms: Applications in the drug and food industry. *Adv Pharm Bull*. 2018. Vol. 8. P. 191–199. DOI: https://doi.org/10.15171/apb.2018.023.
4. Andrade Teixeira Fernandes N., de Souza A. C., Simões L. A. et al. Eco-friendly biosurfactant from Wickerhamomyces anomalus CCMA 0358 as larvicidal and antimicrobial. *Microbiol Res.* 2020. Vol. 241. P. 126571. DOI: https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126571.
5. Andreolli M., Villanova V., Zanzoni S. et al. Characterization of trehalolipid biosurfactant produced by the novel marine strain Rhodococcus sp. SP1d and its potential for environmental applications. *Microb Cell Fact.* 2023. Vol. 22. P. 1–15. DOI: https://doi.org/10.1186/s12934-023-02128-9.
6. Badmus S. O., Amusa H. K., Oyehan T. A., Saleh T. A. Environmental risks and toxicity of surfactants: overview of analysis, assessment, and remediation techniques. *Environ Sci Pollut Res.* 2021. Vol. 28. P. 62085–62104. DOI: https://doi.org/10.1007/s11356-021-16483-w.
7. Bagheri Lotfabad T., Ebadipour N., Roostaazad R. et al. Two schemes for production of biosurfactant from Pseudomonas aeruginosa MR01:

applying residues from soybean oil industry and silica sol–gel immobilized cells. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2017. Vol. 152. P. 159–168. DOI: https://doi.org/10.1016/j.colsurf.2017.01.024.

8. Boxley C. J., Hogan D. E., Stolley R. M., Maier R. M. Synthetic approaches to production of rhamnolipid and related glycolipids / In: Soberón-Chávez GBT, editor. Biosurfactants research and development. *Cambridge* : *Academic Press*, 2023. P. 251–263.
9. Carvalho de C. (2018) Marine Biofilms: A Successful Microbial Strategy With Economic Implications. *Front. Mar. Sci*. 2018. Vol. 5. doi: 10.3389/fmars.2018.00126
10. Carolin C. F., Senthil Kumar P., Mohanakrishna G. et al. Sustainable production of biosurfactants via valorisation of industrial wastes as alternate feedstocks. *Chemosphere*. 2023. Vol. 312. P. 137326. DOI: https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.137326.
11. Ceresa C., Hutton S., Lajarin-Cuesta M. et al. Production of mannosylerythritol lipids (MELs) to be used as antimicrobial agents against S. aureus ATCC 6538. *Curr Microbiol*. 2020. Vol. 77. P. 1373–1380. DOI: https://doi.org/10.1007/s00284-020-01927-2.
12. Chandankere R., Ravikumar Y., Zabed H. M. et al. Conversion of Agroindustrial Wastes to Rhamnolipid by Enterobacter sp. UJS-RC and Its Role against Biofilm-Forming Foodborne Pathogens. *J Agric Food Chem*. 2020. Vol. 68. P. 15478–15489. DOI: https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c05028.
13. Chen H., Song Y., Li H. et al. Enhancing the adaptability of tea plants (Camellia sinensis L.) to high-temperature stress with small peptides and biosurfactants. *Plants*. 2023. Vol. 12. P. 2817. DOI: https://doi.org/10.3390/plants12152817.
14. Chen I. C., Lee M. T. Rhamnolipid biosurfactants for oil recovery: salt effects on the structural properties investigated by mesoscale simulations.

ACS Omega. 2022. Vol. 7. P. 6223–6237. DOI: https://doi.org/10.1021/acsomega.1c06742.

15. Chen W., Qu Y., Xu Z. et al. Heavy metal (Cu, Cd, Pb, Cr) washing from river sediment using biosurfactant rhamnolipid. *Environ Sci Pollut Res*. 2017. Vol. 24. P. 16344–16350. DOI: https://doi.org/10.1007/s11356-017-9272-2.
16. Ciurko D., Chebbi A., Kruszelnicki M. et al. Production and characterization of lipopeptide biosurfactant from a new strain of Pseudomonas antarctica 28E using crude glycerol as a carbon source. *RSC Adv*. 2023. Vol. 13. P. 24129–24139. DOI: https://doi.org/10.1039/D3RA03408A.
17. Cooper D.G., Goldenberg B.G. Surface-active agent from two *Bacillus* species. *Appl. Environ. Microb*iol. 1987. Vol. 53. P. 224-229.
18. da Silva I. A., de Almeida F. C. G., Alves R. N. et al. The formulation of a natural detergent with a biosurfactant cultivated in a low-cost medium for use in coastal environmental remediation. *Fermentation*. 2024. Vol. 10. P. 332. DOI: https://doi.org/10.3390/fermentation10070332.
19. Daverey A., Dutta K., Joshi S., Daverey A. Sophorolipid: a glycolipid biosurfactant as a potential therapeutic agent against COVID-19. *Bioengineered*. 2021. Vol. 12. P. 9550–9560. DOI: https://doi.org/10.1080/21655979.2021.1997261.
20. Dobler L., Ferraz H. C., Araujo de Castilho L. V. et al. Environmentally friendly rhamnolipid production for petroleum remediation. *Chemosphere*. 2020. Vol. 252. P. 126349. DOI: https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126349.
21. Drakontis C. E., Amin S. Design of sustainable lip gloss formulation with biosurfactants and silica particles. *Int J Cosmet Sci*. 2020. Vol. 42. P. 573–580. DOI: https://doi.org/10.1111/ics.12642.

22. Fenical W. Marine microbial natural products: the evolution of a new field of science. *J. of Antibiotics*. 2020. Vol. 73. P. 481–487 https://doi.org/10.1038/s41429-020-0331-4

23. Garrity G. M., Brenner D. J., Krieg N. R. et al. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Volume Two: The Proteobacteria, Part C: The Alpha-, Beta-, Delta-, and Epsilonproteobacteria. New York: Springer, 2005. P. 354–361. DOI:10.1007/0-387-29298-5

24. Ghazi Faisal Z., Sallal Mahdi M., Alobaidi K. H. Optimization and chemical characterization of biosurfactant produced from a novel pseudomonas guguanensis strain Iraqi ZGKM. *Int J Microbiol.* 2023. Vol. 2023. P. 1571991. DOI: https://doi.org/10.1155/2023/1571991.

25. Henkel M., Geissler M., Weggenmann F. et al. Production of microbial biosurfactants: status quo of rhamnolipid and surfactin towards large-scale production. Biotechnol J. 2017. Vol. 12. 1600561. doi: 10.1002/biot.201600561.

26. Hu M., Yu J., Zhang H., Xu Q. An efficient method for the recovery and separation of surfactin from fermentation broth by extraction-back extraction. *Process Biochem.* 2022. Vol. 114. P. 59–65. DOI: https://doi.org/10.1016/j.procbio.2022.01.014.

27. Jain D.K., Collins-Thompson D.L., Lee H., Trevors J.T. A drop-collapsing test for screening surfactant-producing microorganisms. *J. Microbiol. Methods*. 1991. Vol.13. P.271–279.

28. Kadam V., Dhanorkar M., Patil S., Singh P. Advances in the co-production of biosurfactant and other biomolecules: statistical approaches for process optimization. *J Appl Microbiol.* 2024. Vol. 135. P. lxae025. DOI: https://doi.org/10.1093/jambio/lxae025.

29. Kalvandi S., Garousin H., Pourbabaee A. A., Alikhani H. A. Formulation of a culture medium to optimize the production of lipopeptide biosurfactant by a new isolate of Bacillus sp.: a soil heavy metal

mitigation approach. *Front Microbiol*. 2022. Vol. 13. P. 785985. DOI: https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.785985.

30. Kugaji M. et al. Biosurfactants: a review of different strategies for economical production, their applications and recent advancements *Adv. Colloid Interface Sci.* 2025. Vol. 337. https://doi.org/10.1016/j.cis.2024.103389

31. Liu S., Gu S., Shi Y., Chen Q. Alleviative effects of mannosylerythritol lipid-A on the deterioration of internal structure and quality in frozen dough and corresponding steamed bread. *Food Chem*. 2024. Vol. 431. P. 137122. DOI: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137122.

32. López-Prieto A., Moldes A. B., Cruz J. M., Pérez-Cid B. Fungicide effect of a novelty antimicrobial biosurfactant extract alone or combined with copper oxychloride on Botrytis cinerea cells. *Fermentation*. 2023. Vol. 9. P. 528. DOI: https://doi.org/10.3390/fermentation9060528.

33. Madankar C. S., Meshram A. Review on classification, physicochemical properties and applications of microbial surfactants. *Tenside Surf Deterg.* 2022. Vol. 59. P. 1–16. DOI: https://doi.org/10.1515/tsd-2021-2353.

34. Madison A. S., Sorsby S. J., Wang Y., Key T. A. Increasing in situ bioremediation effectiveness through field-scale application of molecular biological tools. *Front Microbiol.* 2023. Vol. 13. P. 1005871. DOI: https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1005871.

35. Maeng Y., Kim K. T., Zhou X. et al. A novel microbial technique for producing high-quality sophorolipids from horse oil suitable for cosmetic applications. *Microb Biotechnol*. 2018. Vol. 11. P. 917–929. DOI: https://doi.org/10.1111/1751-7915.13297.

36. Ma B., Zhu X., Li Z. et al. Enhancement of mannosylerythritol lipid-A on physicochemical stability, antioxidant activity, and bioavailability of bovine lactoferrin emulsion under different pH conditions. *Int J Biol*

Macromol. 2024. Vol. 283. P. 137669. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.137669.

37. Md Badrul Hisham N. H., Ibrahim M. F., Ramli N., Abd-Aziz S. Production of biosurfactant produced from used cooking oil by Bacillus sp. HIP3 for heavy metals removal. *Molecules*. 2019. Vol. 24. P. 2617. DOI: https://doi.org/10.3390/molecules24142617.
38. Medeiros A. D. M. de, Silva Junior C. J. G., de Amorim J. D. P. et al. Oily wastewater treatment: methods, challenges, and trends. *Processes*. 2022. Vol. 10. P. 743. DOI: https://doi.org/10.3390/pr10040743.
39. Mgbechidinma C. L., Akan O. D., Zhang C. et al. Integration of green economy concepts for sustainable biosurfactant production – a review. *Bioresour Technol.* 2022. Vol. 364. P. 128021. DOI: https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.128021.
40. Miao Y., To M. H., Siddiqui M. A. et al. Sustainable biosurfactant production from secondary feedstock—recent advances, process optimization and perspectives. *Front Chem*. 2024. Vol. 12. P. 1327113. DOI: https://doi.org/10.3389/fchem.2024.1327113.
41. Mishra A., Trivedi R. K. A comparative study of biosurfactant preparation by Pseudomonas aeruginosa MTCC 424 using rice bran oil and soybean oil substrates. *J Indian Chem Soc*. 2020. Vol. 97. P. 2501–2515.
42. Mishra I., Fatima T., Egamberdieva D., Arora N. K. Novel bioformulations developed from Pseudomonas putida BSP9 and its biosurfactant for growth promotion of Brassica juncea (L.). *Plants*. 2020. Vol. 9. P. 1349. DOI: https://doi.org/10.3390/plants9101349.
43. Morita T., Fukuoka T., Imura T. Kitamoto molecular sciences and chemical engineering DBT-RM in C glycolipid biosurfactants. Amsterdam : *Elsevier*, 2016. 37 p.
44. .

45. Nunes R. F., Teixeira A. C. S. C. An overview on surfactants as pollutants of concern: Occurrence, impacts and persulfate-based remediation technologies. *Chemosphere*. 2022. Vol. 300. P. 134507. DOI: https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.134507.

46. Patowary R., Patowary K., Kalita M. C., Deka S. Application of biosurfactant for enhancement of bioremediation process of crude oil contaminated soil. *Int Biodeterior Biodegrad*. 2018. Vol. 129. P. 50–60. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2018.01.004.

47. Pavlovska M. et al. Niche partitioning of bacterial communities along the stratified water column in the Black Sea. MicrobiologyOpen. 2021. 10:e1195. https://doi.org/10.1002/mbo3.1195

48. Phulpoto I. A., Yu Z., Hu B. et al. Production and characterization of surfactin-like biosurfactant produced by novel strain *Bacillus nealsonii* S2MT and it's potential for oil contaminated soil remediation. *Microb Cell Fact*. 2020. Vol. 19. P. 1–12. DOI: https://doi.org/10.1186/s12934-020-01402-4.

49. Pinto M. I. S., Campos Guerra J. M., Meira H. M. et al. A biosurfactant from Candida bombicola: its synthesis, characterization, and its application as a food emulsions. *Foods*. 2022. Vol. 11. P. 561. DOI: https://doi.org/10.3390/foods11040561.

50. Purohit A., Das A. J., Ghosh D. Production and characterization of sophorolipid under yeast-mediated submerged fermentation utilizing agro-industrial waste. *Curr Res Microb Sci.* 2025. Vol. 8. P. 100334. DOI: https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2024.100334.

51. Rawat N., Bhonsle A. K., Trivedi J. et al. Synthesis and characterization of biosurfactants from non-edible feedstocks: comparative assessment and their applications in biodiesel. *ChemistrySelect*. 2022. Vol. 7. P. e202202031. DOI: https://doi.org/10.1002/slct.202202031.

52. Ravindran A., Kiran G. S., Selvin J. Revealing the effect of lipopeptide on improving the probiotics characteristics: flavor and texture enhancer in the formulated yogurt. *Food Chem.* 2022. Vol. 375. P. 131718. DOI: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131718.

53. Ribeiro B. G., de Veras B. O., dos Santos Aguiar J. et al. Biosurfactant produced by Candida utilis UFPEDA1009 with potential application in cookie formulation. *Electron J Biotechnol.* 2020. Vol. 46. P. 14–21. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2020.05.001.

54. Rincón-Fontán M., Rodríguez-López L., Vecino X. et al. Novel multifunctional biosurfactant obtained from corn as a stabilizing agent for antidandruff formulations based on Zn pyrithione powder. *ACS Omega*. 2020. Vol. 5. P. 5704–5712. DOI: https://doi.org/10.1021/acsomega.9b03679.

55. Saraç T., Anagün A. S., Özçelik F. et al. Estimation of biosurfactant production parameters and yields without conducting additional experiments on a larger production scale. J *Microbiol Methods*. 2022. Vol. 202. P. 106597. DOI: https://doi.org/10.1016/j.mimet.2022.106597.

56. Seweryn A. Interactions between surfactants and the skin - theory and practice. *Adv Colloid Interface Sci*. 2018. Vol. 256. P. 242–255. DOI: https://doi.org/10.1016/j.cis.2018.04.002.

57. Shaimerdenova U., Kaiyrmanova G., Lewandowska W. et al. Biosurfactant and biopolymer producing microorganisms from West Kazakhstan oilfield. *Sci Rep*. 2024. Vol. 14. P. 1–15. DOI: https://doi.org/10.1038/s41598-024-52906-7.

58. Sharma D., Singh D., Sukhbir-Singh G. M. et al. Biosurfactants: forthcomings and regulatory affairs in food-based industries. Molecules. 2023. Vol. 28. P. 2823. DOI: https://doi.org/10.3390/molecules28062823.

59. Shi J., Chen Y., Liu X., Li D. Rhamnolipid production from waste cooking oil using newly isolated halotolerant Pseudomonas aeruginosa M4. J Clean Prod. 2021. Vol. 278. P. 123879. DOI: https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.123879.

60. Soberón-Chávez G., Hausmann R., Maier R. M., Déziel E. Challenges and prospects for microbial biosurfactant research / In: Soberón-Chávez G. B. T., editor. Biosurfactants Research and Development. Amsterdam : Academic Press, 2023. P. 1–28.

61. Sumaiya M, Anchana Devi C, Leela K. A Study on Biosurfactant Production from Marine Bacteria. *International Journal of Scientific and Research Publications.* 2017. Vol. 7. www.ijsrp.org

62. Sundaram T., Govindarajan R. K., Vinayagam S. et al. Advancements in biosurfactant production using agro-industrial waste for industrial and environmental applications. *Front Microbiol*. 2024. Vol. 15. P. 1357302. DOI: https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1357302.

63. Tambone E., Bonomi E., Ghensi P. et al. Rhamnolipid coating reduces microbial biofilm formation on titanium implants: an in vitro study. *BMC Oral Health.* 2021. Vol. 21. P. 49. DOI: https://doi.org/10.1186/s12903-021-01412-7.

64. Tchakouani G. F. Y., Mouafo H. T., Nguimbou R. M. et al. Antibacterial activity of bioemulsifiers/biosurfactants produced by Levilactobacillus brevis S4 and Lactiplantibacillus plantarum S4 and their utilization to enhance the stability of cold emulsions of milk chocolate drinks. *Food Sci Nutr*. 2024. Vol. 12. P. 141–153. DOI: https://doi.org/10.1002/fsn3.3740.

65. Vučurović D., Bajić B., Trivunović Z. et al. Biotechnological utilization of agro-industrial residues and by-products—sustainable production of biosurfactants. *Foods*. 2024. Vol. 13. P. 711. DOI: https://doi.org/10.3390/foods13050711.

66. Wadhawan A., Singh J., Sharma H. et al. Anticancer biosurfactant-loaded PLA-PEG nanoparticles induce apoptosis in human MDA-MB-231 breast cancer cells. *ACS Omega*. 2022. Vol. 7. P. 5231–5241. DOI: https://doi.org/10.1021/acsomega.1c06334.

67. Wang W., Liang M. Y., Lang J. Q. et al. A new bio-based zwitterionic surfactant with strong interfacial activity at high temperature for enhanced oil recovery. *Green Mater*. 2023. DOI: https://doi.org/10.1680/jgrma.22.00070.

68. Yannick Okouakoua F., Aimé Kayath C., Saturnin Mokémiabeka N. et al. Antiseptic efficacy of a soap made from biosurfactants isolated from bacillus and lactobacillus against pathogenic bacteria. *Adv Microbiol*. 2024. Vol. 14. P. 31–58. DOI: https://doi.org/10.4236/aim.2024.141004.

69. Zaman S. A. U., Bhrdwaj A., Nayarisseri A. et al. Isolation and characterization of novel hydrocarbon-degrading bacteria from oil polluted soil near Nacharam, Hyderabad, India. *Sci Rep*. 2025. Vol. 15. P. 17219. DOI: https://doi.org/10.1038/s41598-025-01081-4.

70. Zhou H., Chen J., Yang Z. et al. Biosurfactant production and characterization of Bacillus sp. ZG0427 isolated from oil-contaminated soil. *Ann Microbiol*. 2015. Vol. 65. P. 2255–2264. DOI: https://doi.org/10.1007/s13213-015-1066-5.