

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОИЗВОДСТВА БИОЛОГИЧЕСКИХ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ИЗ ОТХОДОВ НЕФТЕПЕРЕРАБОТКИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДОЛОГИИ ПОВЕРХНОСТИ ОТКЛИКА

© 2022 г. Aghareed M. Tayeb¹, N. A. Mostafa¹, M. A. Olfat², Rania Farouq^{3,*}, Aliaa M. Monazie⁴

¹ Chemical Engineering Department Faculty of Engineering, Minia University, Minia, 61519 Egypt

² Chemical Engineering Department. Port Said University, 61519 Egypt

³ Petrochemical Engineering Department, Pharos University in Alexandria, Alexandria, 21311 Egypt

⁴ Faculty of Engineering, Fayoum University, Fayoum, 63514 Egypt

*E-mail: olfat@yahoo.com; **E-mail: rania.farouq@pua.edu.eg

Потупила в редакцию 4 сентября 2021 г.

После доработки 8 февраля 2022 г.

Принята к публикации 11 июля 2022 г.

Приведены результаты исследования производства биологических поверхностно-активных веществ (ПАВ) на основе рамнолипидов посредством биохимического разложения отходов нефтепереработки с использованием синегнойной палочки (*Pseudomonas aeruginosa*), штамм ATCC 9027. Для активизации производства рамнолипидов в качестве индуктора добавляли глицерин. Испытания проводили на стоках с различной исходной концентрацией нефти (1, 1.5 и 2%) при двух вариантах дозирования глицерина (10 и 20% от концентрации нефти в стоках). Была достигнута высокая степень удаления нефти из сточных вод (99.9% – в отношении как полиароматических, так и полиалифатических углеводородных фракций). При этом наблюдался высокий процент выхода рамнолипидов (2.7 г/л). Для оптимизации параметров, влияющих на биохимическое разложение нефти, был применен статистический анализ экспериментальных данных с использованием методологии поверхности отклика (RSM) и статистического плана Бокса–Бенкена. Исследование показало, что оптимальные значения длительности реакции, процентного содержания нефти и добавляемого глицерина составляют 240 ч, 2 и 18.346% соответственно. Эти значения были сопоставимы с результатами, полученными в ходе экспериментальной работы.

Ключевые слова: биологические ПАВ, оптимизация, синегнойная палочка, очистка сточных вод, рамнолипид

DOI: 10.31857/S0028242122050100, **EDN:** JEFLWA

Биологические ПАВ – поверхностно-активные вещества, которые производятся живыми клетками, часто микроорганизмами [1]. Они обладают биологическими свойствами, важными для многих отраслей промышленности и технологических процессов. Биологические ПАВ синтезируются микробами, особенно во время их роста на несмешивающихся с водой субстратах, и с успехом заменяют ПАВ, приготовленные обычным химическим способом.

В последнее время внимание исследователей привлекают природные биологические ПАВ, поскольку они менее ядовитые, биоразлагаемые и приемлемы с экологической точки зрения. Биологические ПАВ можно широко использовать в качестве эмульгаторов, консервантов и моющих средств в косметике, фармацевтике и пищевой промышленности [2]. Их можно синтезировать, используя различные субстраты, которые относятся, главным образом, к возобновляемым ресурсам,

например, растительные масла, отходы молочного производства и т. п.

Биологические ПАВ классифицируют в зависимости от их химической структуры и микробного происхождения. К основным типам биологических ПАВ относятся гликолипиды, липопептиды, фосфолипиды, липопротеины, полимерные ПАВ, жирные кислоты и аэрозольные ПАВ [3].

Бактерии рода псевдомонады (*Pseudomonas*) являются наиболее важным производителем большого количества гликолипидов; они состоят из двух частиц рамнозы и двух частиц *b*-гидроксидекановой кислоты [4–6].

Известно, что рамнолипид представляет собой биологическое ПАВ, которое вырабатывается синегнойной палочкой (*Pseudomonas aeruginosa*) в процессе ферментации. Для синтеза рамнолипида были использованы такие ресурсы углеродного топлива, как этанол, глюкоза и растительное масло. Он применяется для усиления разложения, эмульгирования и диспергирования углеводородов и растительных масел различного типа, а также для удаления металлов из почвы [7].

Микроорганизмы используют различные органические компоненты в качестве источника углерода и энергии, которые требуются для их роста. Синегнойная палочка производит рамнолипид с помощью водорастворимых соединений углерода, в частности, глицерина, глюкозы и этанола [8].

Поверхностная активность позволяет широко применять ПАВ в качестве высокоэффективных эмульгаторов, пенообразующих и диспергирующих материалов [9]. По сравнению с их альтернативами, синтезированными химическим способом, биологические ПАВ обладают более высокими пенообразующими свойствами и более высокой избирательной способностью. Они очень активны при экстремальных значениях температуры, pH и солености, кроме того, их можно выделять из промышленных отходов и побочных продуктов. Последнее свойство делает возможным создание малозатратного производства биологических ПАВ и позволяет утилизировать отработанные субстраты, одновременно снижая их загрязняющее действие [10–13].

Биологические ПАВ часто используются в различных отраслях промышленности: при производ-

стве продуктов питания, в химической, косметической и фармацевтической промышленности, а также в различных областях экологической биотехнологии. Примеры применения биологических ПАВ приведены в многочисленных обзорных статьях [14–17].

Цель данного исследования – оптимизация рабочих параметров процесса биохимического разложения с целью определения оптимальных значений рамнозного эквивалента (г/л) и максимальной степени разложения нефти, которые позволяют достигать наивысшего уровня производства рамнолипидов. В процессе синтеза биологических ПАВ проводили измерение поверхностного натяжения и сухой массы клеток.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Бактериальный штамм, продуцирующий биологические ПАВ. В настоящем исследовании для проведения экспериментов использовали продуцирующий биологические ПАВ микроорганизм, известный как *Pseudomonas aeruginosa*, штамм ATCC 9027. Штамм был получен из Египетской коллекции микробных культур (ЕМСС) сельскохозяйственного факультета Университета Айн-Шамс. Рост синегнойной палочки поддерживали на скошенном агаре (agar slants). В используемую среду, содержащую (г/л): пептон 5, глюкозу 5, хлорид аммония 1.07, гидрофосфат калия 1.5 и гептагидрат сульфата магния 0.37, добавляли 0.5% (по объему) нефти для адаптации микроорганизмов к субстрату ферментации и доводили до pH 7 введением гидроксида натрия.

Эксперименты по ферментации проводили в герметичном 10-литровом стеклянном реакторе с механическим перемешиванием и барботированием воздухом в течение примерно 360 ч. Температуру реактора поддерживали на уровне 37°C [18].

Экспериментальная схема и анализ данных. Для оптимизации производства биологических ПАВ с использованием нефтесодержащих сточных вод (в качестве субстрата) и глицерина (в качестве индуктора) применяли методологию поверхности отклика на основе экспериментальной схемы Бокса–Бенкена. Эта моделирующая аппроксимация может быть полезным инструментом при проектировании и масштабировании биореакторов, необ-

Таблица 1. Экспериментальный диапазон и уровни независимых технологических переменных

Независимая переменная	Обозначение	Диапазон и уровни		
		-1	0	+1
Продолжительность контакта, ч	X_1	48	144	240
Концентрация нефти, %	X_2	1	1.5	2

ходимых для производства биологических ПАВ с несмешиваемыми ресурсами углеродного топлива [19–22].

Для определения оптимальных рабочих параметров при производстве рамнолипидов из отходов нефтепереработки путем аэробной ферментации была применена одна из схем Бокса–Бенкена. Схемы Бокса–Бенкена представляют собой части $3N$ -схем, используемых для определения полной квадратичной модели в N -факторах. Схемы состоят из $2k$ возможных комбинаций высокого и низкого уровней для различных подмножеств элементов размера k , при этом все остальные элементы находятся на центральных уровнях. Подмножества выбираются согласно скорректированному плану неполных блоков для N -обработок в блоках факторов размера k . Кроме того, на центральных уровнях в них могут быть включены различные центральные точки со всеми элементами [23].

В настоящем исследовании была разработана математическая модель для прогнозирования производства рамнолипидов с использованием синегнойной палочки. Были определены три уровня естественных и кодированных переменных, которые представлены в табл. 1.

Оптимальные условия для биохимического разложения нефти были рассчитаны с помощью методологии поверхности отклика (RSM). Для этого использовали экспериментальную схему, состоящую из набора статистических и математических методов, которые позволяли улучшить и оптимизировать результаты выбранного эксперимента. Основная цель методологии RSM состояла в том, чтобы найти оптимальные значения факторов, влияющих на отклик. Методология была основана на представлении отклика в экспериментальном поле. При применении эмпирической математической модели оно зависело от контролируемых переменных (входных данных), называемых естественными переменными.

В качестве эмпирической математической модели можно использовать полиномиальное уравнение (1):

$$r = \beta_0 + \sum \beta_i X_i + \sum \beta_{ii} X_i^2 + \sum \sum \beta_{ij} X_i X_j, \quad (1)$$

где r – отклик; $\beta_0, \beta_i, \beta_{ii}$ и β_{ij} (i и $j = 1, 2, 3$) – коэффициенты модели; X_i и X_j (i и $j = 1, 2, 3$) – кодированные независимые параметры.

В процессе численного анализа были разработаны две модели, в первой из которых в качестве независимых переменных процесса использовались продолжительность контакта и концентрация нефти. Длительность реакции и процентное содержание нефти обозначены X_1 и X_2 (как показано в табл. 1); им соответствуют экспериментальные значения x_1 и x_2 . Отклики обозначены как Y_1 и Y_2 – выход рамнолипидов и поверхностное натяжение (мН/м) соответственно. На основе оптимальной концентрации нефти можно разработать еще одну модель для добавления глицерина.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты проведенных экспериментов представлены в табл. 2. После аппроксимации данных были получены полиномиальные уравнения аппроксимации второго порядка (2), (3):

$$Y_1 = 1.96 + 0.98X_1 + 0.25X_2 - 0.56X_1^2 - 0.14X_2^2 + 0.25X_1X_2, \quad (2)$$

$$Y_2 = 35.54 - 16.63X_1 + 1.77X_2 + 11.33X_1^2 + 0.23X_2^2 - 1.92X_1X_2. \quad (3)$$

Модели производства биологических ПАВ в отношении кодированных переменных выражены в уравнениях (2) и (3), представляющих выход рам-

Таблица 2. Экспериментальная схема и результаты

Номер эксперимента	Кодированные переменные		Естественные переменные		Отклики	
	X_1	X_2	концентрация нефти, %	время, ч	Y_1 , г/л	Y_2 , мН/м
1	+1	-1	1	240	1.7619	30.8
2	+1	+1	2	240	2.6811	30.1
3	-1	0	1.5	48	0.3306	64.0
4	0	-1	1	144	1.4603	33.9
5	0	+1	2	144	2.1278	38.2
6	0	0	1.5	144	2.0221	35.0
7	-1	+1	2	48	0.2859	67.0
8	+1	0	1.5	240	2.4107	30.3
9	-1	-1	1	48	0.3864	60.0

Таблица 3. Дисперсионный анализ выхода рамнолипидов (Y_1)

Источник	Степень свободы	Сумма квадратов	Средние квадраты	Значение критерия Фишера F	Значение вероятности p prob > F
Модель	5	7.00	1.40	97.43	0.0016
Остаток	3	0.043	0.014		
Всего	8	7.04			
R^2		0.9939			

Таблица 4. Дисперсионный анализ поверхностного натяжения (Y_2)

Источник	Степень свободы	Сумма квадратов	Средние квадраты	Значение критерия Фишера F	Значение вероятности p prob > F
Модель	5	1950.55	390.11	937.31	0.0001
Остаток	3	1.25	0.42		
Всего	8	1951.80			
R^2		0.9994			

нолипидов (Y_1) и поверхностное натяжение (Y_2) как функцию продолжительности контакта (X_1) и концентрации нефти (X_2).

Собранные экспериментальные данные были проанализированы с помощью пакета статистического анализа Statistical Analysis System (SAS) и аппроксимированы с использованием полиномиальной модели второго порядка для проведения дисперсионного анализа Analysis of variance (ANOVA). Дисперсионный анализ часто используется для проверки значимости и адекватности модели. Уровень значимости (называемый вероятностью ошибки P) и критерий Фишера рассчитываются с помощью компьютерных программ.

В табл. 3 и 4 представлены поверхности отклика для выхода рамнолипидов (Y_1), поверхностного натяжения (Y_2) и статистического анализа для данных. Этот анализ проводили методами, использующими коэффициент корреляции экспериментальных данных (R^2) и критерий Фишера (F). Коэффициент корреляции являлся критерием согласия между данными моделирования и экспериментальными данными. С помощью критерия Фишера (F) определяли значимость коэффициентов регрессии переменных. Если F равно 97.43 для Y_1 и 937.31 для Y_2 , то модель является значимой. Вероятность того, что такое большое значение F может возникнуть из-за шума, составляет лишь 0.16 и 0.01% соответственно.

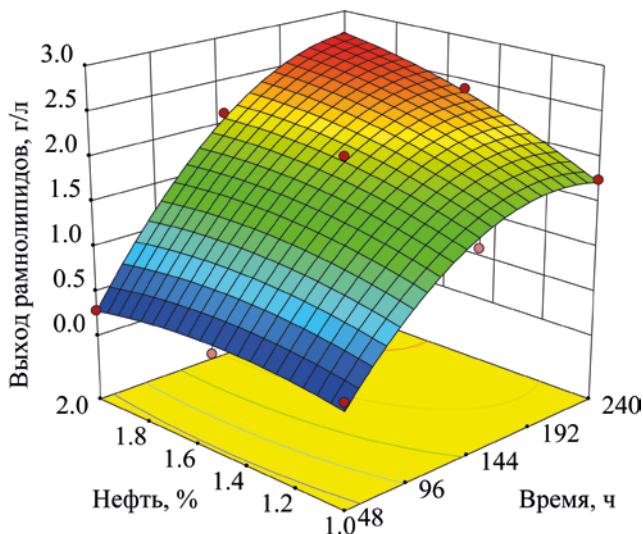


Рис. 1. Поверхность отклика, описываемая моделью Y_1 , которая представляет выход рамнолипидов в зависимости от продолжительности контакта и концентрации нефти.

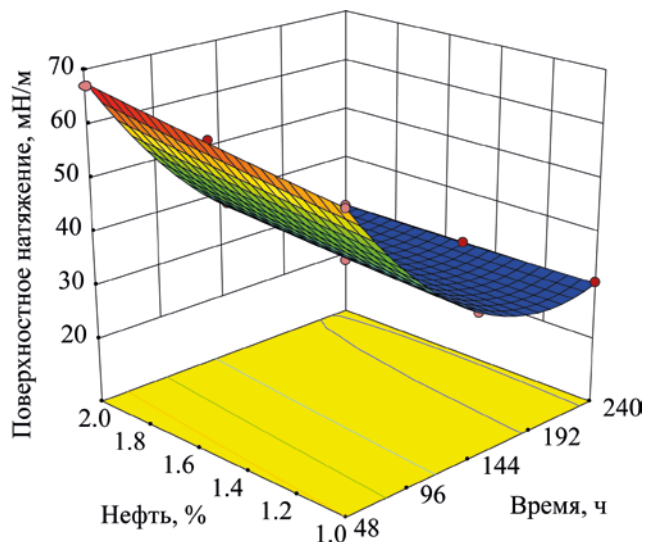


Рис. 2. Поверхность отклика, описываемая моделью Y_2 , которая представляет поверхностное натяжение в зависимости от продолжительности контакта и концентрации нефти.

«Прогнозируемый R -квадрат» 0.9310 для Y_1 и 0.9938 для Y_2 находится в разумном согласии со «скорректированным R -квадратом» 0.9837 и 0.9983 соответственно; разность составляет менее 0.2.

Очевидно, что эти факторы достаточно объясняют разброс данных относительно их среднего значения, т.е. оцениваемые факторы верны. Однако небольшое значение расчетной вероятности ошибки свидетельствует о том, что регрессионная модель более значима.

Как показано в табл. 3 и 4, анализ ANOVA также свидетельствует о наличии несоответствия. Если в экспериментальной матрице имеются повторяющиеся оценки, например, отклики, основанные на одних и тех же группах независимых параметров, что имеет место в данном случае, можно провести тест, который даст значимость дублирующей ошибки при сравнении с ошибкой, обусловленной моделью.

Для графического представления взаимосвязи между одним откликом и двумя независимыми переменными использовали MATLAB 7.0. На рис. 1, 2 показаны трехмерные кривые, построенные для откликов Y_1 и Y_2 соответственно (примеры результатов).

На основе разработанных математических моделей были определены оптимальные значения параметров производства биологических ПАВ, позволяющие достигать максимального выхода рамнолипидов Y_1 и минимизировать поверхностное натяжение Y_2 .

Оптимальные эксплуатационные факторы имели следующие значения: продолжительность контакта – 232.8 ч, концентрация нефти – 1.913%. Максимальный выход рамнолипидов, достигнутый в этих условиях, составил 2.689 г/л при минимальном поверхностном натяжении 30.003 мН/м.

На основе оптимальной концентрации нефти можно разработать модель добавления глицерина, в которой модель производства биологических ПАВ в отношении кодированных переменных (как показано в табл. 5) выражается уравнениями (4) и (5), представляющими выход рамнолипидов (Y_1) и поверхностное натяжение (Y_2) в зависимости от продолжительности контакта (X_1) и концентрации глицерина (X_2):

$$Y_1 = 2.72 + 1.95X_1 + 0.82X_2, \quad (4)$$

$$Y_2 = 29.55 - 11.27X_1 - 5.54X_2 + 8.62X_1^2 + 3.60X_2^2 + 5.30X_1X_2. \quad (5)$$

Таблица 5. Экспериментальный диапазон и уровни независимых технологических переменных

Независимая переменная	Обозначение	Диапазон и уровни		
		-1	0	+1
Продолжительность контакта, ч	X_1	48	144	240
Концентрация глицерина, %	X_2	0	10	20

Таблица 6. Экспериментальная схема и результаты

Номер эксперимента	Кодированные переменные		Естественные переменные		Отклики	
	X_1	X_2	концентрация глицерина, %	время, ч	Y_1 , г/л	Y_2 , мН/м
1	+1	-1	0	240	2.6811	30.10
2	+1	0	10	240	5.1987	29.00
3	-1	-1	0	48	0.2859	65.00
4	-1	+1	20	48	0.6820	42.50
5	0	+1	20	144	3.9068	28.77
6	0	0	10	144	3.5760	28.88
7	-1	0	10	48	0.6257	48.00
8	0	-1	0	144	2.1278	38.20
9	+1	+1	20	240	5.4274	60.00

Таблица 7. Дисперсионный анализ выхода рамнолипидов (Y_1)

Источник	Степень свободы	Сумма квадратов	Средние квадраты	Значение критерия Фишера F	Значение вероятности $p \text{ prob} > F$
Модель	2	26.90	13.45	22.89	0.0016
Остаток	6	3.53	0.59		
Всего	8	30.43			
R^2		0.8841			

Таблица 8. Дисперсионный анализ поверхностного натяжения (Y_2)

Источник	Степень свободы	Сумма квадратов	Средние квадраты	Значение критерия Фишера F	Значение вероятности $p \text{ prob} > F$
Модель	5	1232.31	246.46	59.75	0.0033
Остаток	3	12.37	4.12		
Всего	8	1244.69			
R^2		0.9901			

Результаты проведенных экспериментов представлены в табл. 6.

В табл. 7 и 8 представлены значения поверхностностей отклика для выхода рамнолипидов (Y_1), поверхностного натяжения (Y_2) и статистического анализа для данных.

Критерий Фишера (F) использовали для определения значимости коэффициентов регрессии переменных. Если F равно 22.89 для Y_1 и 59.75 для Y_2 , то модель является значимой. Вероятность того, что такое большое значение F может возникнуть из-за шума, составляет лишь 0.16 и 0.33% соответственно.

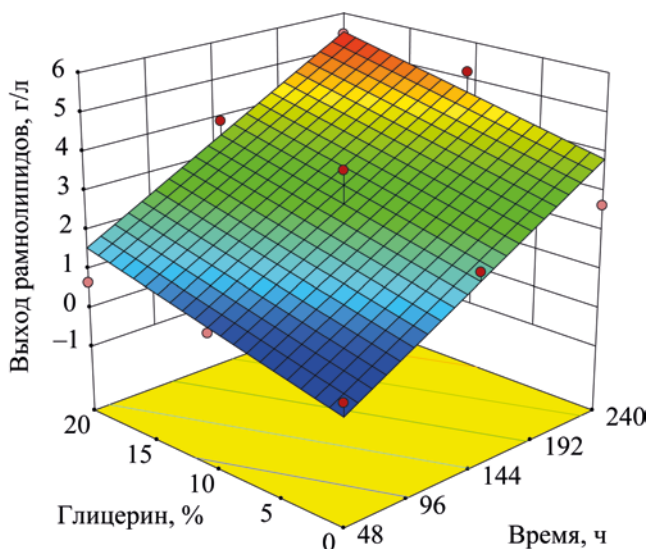


Рис. 3. Поверхность отклика описывается моделью Y_1 , которая представляет выход рамнолипидов в зависимости от продолжительности контакта и концентрации глицерина.

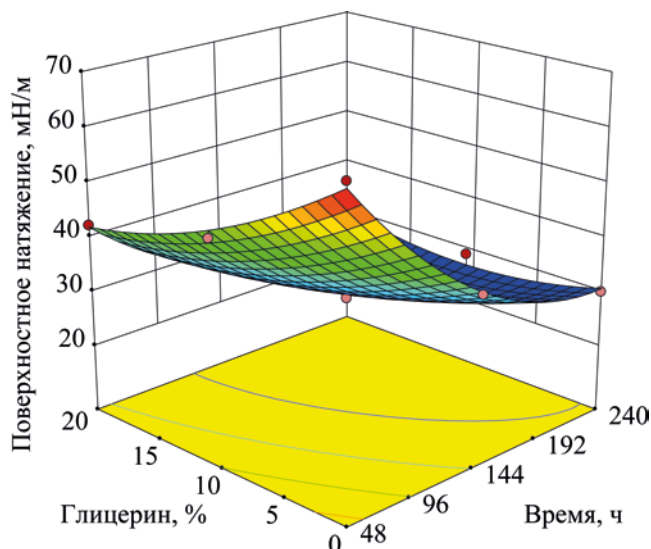


Рис. 4. Поверхность отклика описывается моделью Y_2 , которая представляет поверхностное натяжение в зависимости от продолжительности контакта и концентрации глицерина.

«Прогнозируемый R -квадрат» 0.6924 для Y_1 и 0.8826 для Y_2 находится в разумном согласии со «скорректированным R -квадратом» 0.8455 и 0.9735 соответственно; разность составляет менее 0.2.

Для графического представления взаимосвязи между одним откликом и двумя независимыми переменными использовали MATLAB 7.0. На рис. 3 и 4 показаны трехмерные кривые, построенные для откликов Y_1 и Y_2 соответственно.

На основе разработанных математических моделей были определены оптимальные значения для производства биологических ПАВ, позволяющие достигать максимального выхода рамнолипидов (Y_1) и минимизировать поверхностное натяжение (Y_2).

Оптимальные эксплуатационные факторы при использовании 2% нефти составили 240 ч для продолжительности контакта и 18.346% для концентрации глицерина. Максимальный выход рамнолипидов, достигнутый в этих условиях, составил 5.360 г/л при минимальном поверхностном натяжении 29.216 мН/м.

На рис. 1–4 информативно и наглядно показана

на взаимосвязь между двумя взаимодействующими факторами и откликом, в то время как третий фактор остается постоянным на нулевом уровне. Результаты показали, что при кодированных переменных длительности реакции и процентного содержания нефти значительное снижение поверхностного натяжения имело место при увеличении длительности реакции до тех пор, пока оно не достигало постоянного значения. Однако при более высоких концентрациях нефти снижение поверхностного натяжения занимало больше времени.

Кроме того, снижение поверхностного натяжения происходило при повышении процентного содержания добавляемого глицерина и увеличении длительности реакции.

Любое повышение процентного содержания нефти увеличивало выход продукта до тех пор, пока концентрация нефти не достигала 2%. Эта точка соответствовала максимальному выходу продукта, после чего любое дальнейшее увеличение концентрации нефти снижало выход продукта, поскольку более высокая концентрация субстрата приводит к замедлению роста бактерий.

По виду трехмерной поверхности, показанной на рис. 1, можно заключить, что увеличение длительности реакции и концентрации нефти ведет к повышению эффективности производства рамнолипидов до тех пор, пока она не достигнет своего максимального значения, после чего скорость производства снижается в результате увеличения показателя гибели бактерий. По мере увеличения процентного содержания нефти увеличивается выход продукта, пока концентрация нефти не достигнет 2%. В этот момент выход продукта достигает максимального значения, после чего увеличение концентрации нефти снижает производительность, поскольку концентрация субстрата становится ингибитором роста бактерий. Следует отметить, что увеличение концентрации глицерина повышает скорость роста клеток.

Аналогичным образом трехмерные поверхности, показанные на рис. 2–4, свидетельствуют о том, что сочетание длительности реакции и концентрации нефти оказывает существенное влияние на скорость разложения. Так, при повышении концентрации сырой нефти рост длительности реакции увеличивает скорость разложения до тех пор, пока она не достигнет своего максимального значения (см. рис. 2–4). При содержании нефти 2% производительность достигает максимального значения, после чего любое увеличение концентрации нефти снижает скорость разложения, поскольку более высокая концентрация субстрата действует как ингибитор роста бактерий. Следует отметить, что увеличение концентрации глицерина повышало скорость разложения.

Таким образом, проведены эксперименты по биохимическому разложению отходов нефтепереработки с целью получения рамнолипидных биологических ПАВ с использованием синегнойной палочки (*Pseudomonas aeruginosa*), штамм ATCC 9027. Для активизации производства рамнолипидов добавляли глицерин в качестве индуктора. Для проведения статистического анализа экспериментальных данных использовали методологию поверхности отклика. Результаты показали, что оптимальные значения длительности реакции, процентного содержания нефти и добавляемого глицерина составляют 240 ч, 2 и 18.346% соответственно. Было обнаружено, что оптимальные значения,

полученные в результате статистического анализа, хорошо согласуются с экспериментальными данными.

ПРАКТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ

1. Биохимическое разложение нефтесодержащих стоков для получения биологических ПАВ на основе рамнолипидов.

2. Изучение влияния концентрации нефти (1, 1.5, 2, 2.5%).

3. Оптимизация параметров, влияющих на биохимическое разложение нефти: с использованием методики RSM и статистического плана Бокса–Бенкена.

4. В качестве индуктора добавляли глицерин.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Aghareed M. Tayeb, ORCID: <https://doi.org/0000-0002-3266-8318>

N. A. Mostafa, ORCID: <https://doi.org/0000-0002-1147-1970>

M. A. Olfat, ORCID: <https://doi.org/0000-0003-4987-9696>

Rania Farouq, ORCID: <https://doi.org/0000-0002-1616-7169>

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Sáenz-Marta C.I., de Lourdes Ballinas-Casarrubias M., Rivera-Chavira B.E., Nevárez-Moorillón G.V. Biosurfactants as useful tools in bioremediation. In: Advances in bioremediation of wastewater and polluted soil, 2015. <https://doi.org/10.5772/60751>
2. Subasioglu T., Cansunar E., Nutritional factors effecting rhamnolipid production by a nosocomial *Pseudomonas aeruginosa* // Hacettepe J. of Biology and Chemistry. 2008. V. 36. № 1. P. 77–81.
3. Van Bogaert I.N., Saerens K., De Muyck C., Develter D., Soetaert W., Vandamme E.J. Microbial production and application of sophorolipids // Appl. Microbiol. Bio-

- technol. 2007. V. 76. P. 23–34. <https://doi.org/10.1007/s00253-007-0988-7>
4. *Syldatk C., Wagner F.* Production of biosurfactants. In: *Biosurfactants and Biotechnology*, ed. by N. Kosaric, W.L. Cairns, Neil C.C. Gray, W.L. Cairns, N.C.C. Gray, 1987, Chapter 3, 32 p. <https://doi.org/10.1201/9781315138428>
 5. *Sharma D., Ansari M.J., Al-Ghamdi A., Adgaba N., Khan K.A., Pruthi V., Al-Waili N.* Biosurfactant production by *Pseudomonas aeruginosa* DSVP20 isolated from petroleum hydrocarbon-contaminated soil and its physicochemical characterization // *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2015. V. 22. P. 17636–17643. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4937-1>
 6. *Rahman P.K., Gakpe E.* Production, characterisation and applications of biosurfactants – Review // *Biotechnology.* 2008. V. 7. № 2. P. 360–370. <https://doi.org/10.3923/biotech.2008.360.370>
 7. *Pacwa-Plociniczak M., Plaza G.A., Piotrowska-Seget Z., Cameotra S.S.* Environmental applications of biosurfactants: Recent advances // *Int. J. Mol. Sci.* 2011. V. 12. № 1. P. 633–654. <https://doi.org/10.3390/ijms12010633>
 8. *Van der Vegt W., Van der Mei H.C., Noordmans J., Busscher H.J.* Assessment of bacterial biosurfactant production through axisymmetric drop shape analysis by profile // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 1991. V. 35. № 6. P. 766–770. <https://doi.org/10.1007/bf00169892>
 9. *De S., Malik S., Ghosh A., Saha R., Saha B.* A review on natural surfactants // *RSC Adv.* 2015. V. 5. № 81. P. 65757–65767. <https://doi.org/10.1039/C5RA11101C>
 10. *Karlapudi A.P., Venkateswarulu T.C., Tammineedi J., Kanumuri L., Ravuru B.K., ramu Dirisala V., Kodali V.P.* Role of biosurfactants in bioremediation of oil pollution – a review // *Petroleum.* 2018. V. 4. № 3. P. 241–249. <https://doi.org/10.1016/j.petlm.2018.03.007>
 11. *Tripathi L., Irorere V.U., Marchant R., Banat I.M.* Marine derived biosurfactants: a vast potential future resource // *Biotechnol. Lett.* 2018. V. 40. № 11–12. P. 1441–1457. <https://doi.org/10.1007/s10529-018-2602-8>
 12. *Souza K.S.T., Gudiña E.J., Schwan R.F., Rodrigues L.R., Dias D.R., Teixeira J.A.* Improvement of biosurfactant production by *Wickerhamomyces anomalus* CCMA 0358 and its potential application in bioremediation // *J. Hazard. Mater.* 2018. V. 346. P. 152–158. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.12.021>
 13. *Wu J.L., Lu J.K.* Marine Microbial Biosurfactin. In: *Springer Handbook of Marine Biotechnology*. Springer, Berlin, Heidelberg. 2015. P. 1387–1404. https://doi.org/10.1007/978-3-642-53971-8_64
 14. *Rahman K.S.M., Rahman T.J., Kourkoutas Y., Petsas I., Marchant R., Banat I.M.* Enhanced bioremediation of *n*-alkane in petroleum sludge using bacterial consortium amended with rhamnolipid and micronutrients // *Bioresour. Technol.* 2003. V. 90. № 2. P. 159–168. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(03\)00114-7](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(03)00114-7)
 15. *Das K., Mukherjee A.K.* Comparison of lipopeptide biosurfactants production by *Bacillus subtilis* strains in submerged and solid state fermentation systems using a cheap carbon source: Some industrial applications of biosurfactants // *Process Biochem.* 2007. V. 42. № 8. P. 1191–1199. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2007.05.011>
 16. *Das P., Mukherjee S., Sen R.* Improved bioavailability and biodegradation of a model polyaromatic hydrocarbon by a biosurfactant producing bacterium of marine origin // *Chemosphere.* 2008. V. 72. № 9. P. 1229–1234. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.05.015>
 17. *Banat I.M., Franzetti A., Gandolfi I., Bestetti G., Martinotti M.G., Fracchia L., Marchant R.* Microbial biosurfactants production, applications and future potential // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2010. V. 87. № 2. P. 427–444. <https://doi.org/10.1007/s00253-010-2589-0>
 18. *Mostafa N.A., Tayeb A.M., Mohamed O.A., Farouq R.* Biodegradation of petroleum oil effluents and production of biosurfactants: Effect of initial oil concentration // *J. Surfactants Deterg.* 2019. V. 22. P. 385–394. <https://doi.org/10.1002/jsde.12240>
 19. *Smith L.H., McCarty P.L., Kitanidis P.K.* Spreadsheet method for evaluation of biochemical reaction rate coefficients and their uncertainties by weighted nonlinear least-squares analysis of the integrated Monod equation // *Appl. Environ. Microbiol.* 1998. V. 64. № 6. P. 2044–2050. <https://doi.org/10.1128/aem.64.6.2044-2050.1998>
 20. *Moshtagh B., Hawboldt K., Zhang, B.* Kinetic modeling of biosurfactant production by *Bacillus subtilis* N3-1P using brewery waste // *Chemical Product and Process Modeling.* 2021. P. 000010151520200118. <https://doi.org/10.1515/cppm-2020-0118>
 21. *Selvaraj S., Natarajan K., Nowak A., Murty V.R.* Mathematical modeling and simulation of newly isolated

- bacillus cereus* M1GT for tannase production through semi-solid state fermentation with agriculture residue *triphalala* // S. Afr. J. Chem. Eng. 2021. V. 35. № 1. P. 89–97. <https://doi.org/10.1016/j.sajce.2020.10.001>
22. Maass D., Ramirez M.I., Roman G.R., Alameda E.J., de Souza A.A.U., Valle J.A.B., Vaz D.A. Two-phase olive mill waste (alpeorujo) as carbon source for biosurfactant production // J. Chem. Technol. Biotechnol. 2016. V. 91. № 7. P. 1990–1997. <https://doi.org/10.1002/jctb.4790>
23. Youssef N.H., Duncan K.E., Nagle D.P., Savage K.N., Knapp R.M., McInerney M.J. Comparison of methods to detect biosurfactant production by diverse microorganisms // J. Microbiol. Methods. 2004. V. 56. № 3. P. 339–347. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2003.11.001>