

ПОДБОР ОПТИМАЛЬНОГО СОСТАВА СРЕДЫ И УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ДЛЯ МАКСИМАЛЬНОГО ВЫХОДА РАМНОЛИПИДОВ У ГЕТЕРОЛОГИЧНЫХ ПРОДУЦЕНТОВ

© 2024 г. М. Н. Барамзин¹ *, С. Г. Литвинец¹

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Вятский Государственный Университет», Киров, 610000 Россия

*e-mail: mishabaramzin@yandex.ru

Поступила в редакцию 11.10.2024 г.

После доработки 26.10.2024 г.

Принята к публикации 30.10.2024 г.

Рамнолипиды – высокоэффективные микробные поверхностно-активные вещества, которые можно использовать как компонент косметических и моющих средств. Гетерологичная экспрессия генов рамнолипидов – способ избежать сложной регуляции биосинтеза рамнолипидов. Оптимизированы состав среды и условия культивирования продуцентов рамнолипидов. Для гетерологичных *Pseudomonas viridiflava* AIC1223: P5, P6, P8 при использовании соевого и таллового масел в качестве источника углерода получен максимальный выход продукта, который составил: 120.3 ± 0.6 , 210.1 ± 1.7 , 172 ± 0.3 мг/мл соответственно; у гетерологичной *Escherichia coli* BLWT: E14 наибольший выход продукта (43.2 ± 0.4 мг/мл) наблюдали при использовании глицерина. Во всех случаях пептон, как источник азота, оказывал положительное влияние на выход рамнолипидов. Для E14 лучшим источником микроэлементов является дрожжевой экстракт, а для P5, P6, P8 – смесь солей: сульфат магния и моногидрофосфат калия. Увеличение температуры и рН положительно влияет на продуктивность при использовании гидрофобных субстратов.

Ключевые слова: рамнолипиды, гетерологичные продуценты, подбор условий культивирования, повышение выхода продукта

DOI: 10.56304/S0234275824060024

Рамнолипиды являются высокоэффективными микробными поверхностно-активными веществами гликолипидной структуры [1]. Они обладают такими положительными качествами по сравнению с синтетическими поверхностно-активными веществами, как биоразлагаемость, низкая токсичность, экологичность, способность проявлять свою поверхностную активность в экстремальных средах [1]. Основным продуцентом этих соединений является условно-патогенная бактерия *Pseudomonas aeruginosa* [1, 2]. У природного продуцента рамнолипиды образуются в ходе кворум-зависимого процесса биосинтеза, в котором ключевую роль играют рамнозилтрансферазы [2]. За биосинтез рамнолипидов отвечает регулируемый гомосерин-лактонами оперон rhlAB [2].

Рамнолипиды обладают широким потенциалом и могут быть применены в качестве компонентов моющих средств, косметики, а также в роли действующих компонентов противомикробных, противораковых, иммуномодулирующих препаратов [3, 4]. Важным направлением использования рамнолипидов является биоремедиация почвы

(очистка от пестицидов, от нефтепродуктов) и нефтяная промышленность (для увеличения нефтеотдачи) [4].

Благодаря своему противомикробному эффекту рамнолипиды могут стать эффективным и экологически-безвредным компонентом средств для борьбы с фитопатогенными микроорганизмами [5].

Использование гетерологичных продуцентов для получения препаратов рамнолипидов позволяет избежать применения условно-патогенной для человека *Pseudomonas aeruginosa* [1, 2, 6] и обеспечивает доступ к различным питательным субстратам в зависимости от организма хозяина. В качестве источника углерода при культивировании продуцентов рамнолипидов используются различные масла: фритюрное [7], пальмовое [8], соевое и сафлоровое [9], кокосовое [10]; сахара (глюкоза, фруктоза, сахароза, лактоза, мальтоза) [11], многоатомные спирты, например, глицерин [11], натриевые соли янтарной и лимонной кислот [11]. Кроме того, могут рассматриваться такие субстраты, как арахисовый жмых и отработанное моторное масло [12]. Также могут быть использованы

ны различные сахаросодержащие промышленные отходы [13], среди которых упоминаются: ячменная мякоть, маниока, желтый кешью, сырая сырная сыворотка, отходы ликеро-водочного производства, мякоть фундука, патока, соевая патока, барда сахарного тростника, мякоть подсолнечника, пшеничная солома [13].

В качестве источника азота используются соединения аммония: ацетат, сульфат; пептон, нитрат натрия [11].

Продуктивность продуцентов рамнолипидов зависит от выбора источника азота и углерода (при росте на гидрофобных соединениях углерода продуктивность, как правило, выше, чем при росте на гидрофильных), важны также значения pH, температуры и длительности культивирования (оптимальное значение от 4 до 11 сут) [14].

Целью данной работы является оптимизация условий повышения продуктивности гетерологичных продуцентов на основе *Escherichia coli* BLWT: E14 и *Pseudomonas viridiflava* AIC1223: P5, P6, P8.

УСЛОВИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА

Гетерологичные продуценты

В ходе работы определяли оптимальные для биосинтеза рамнолипидов условия и сочетания источников азота и углерода для полученных авторами ранее штаммов гетерологичных продуцентов: *Escherichia coli* BLWT E14, *Pseudomonas viridiflava* AIC1223 P5, *P. viridiflava* AIC1223 P6, *P. viridiflava* AIC1223 P8 (депонированы в коллекции микроорганизмов Вятского Государственного Университета) [15].

Приготовление сред. Использованные субстраты и источники азота

Для приготовления сред были использованы следующие соединения:

Глюкоза “ч. д. а.” (АО “Аурат”, Россия), лактоза “х. ч.” (АО “Аурат”), глицерин “ч. д. а.” (ООО АО “Реахим”, Россия), Гидролизат кукурузного масла (АО “Астон”, Россия), соевое масло (ООО “Соя АНК”, Россия), талловое масло (ООО “Сиблес”, Россия), сульфат аммония “ч. д. а.” (ОАО “Донецкий завод химреактивов”, Россия), пептон (ООО “Био-Топ”, Россия), дрожжевой экстракт (“DIAGNOSTICS PASTEUR”, Франция), сульфат магния “ч. д. а.” (ООО “Компонент-реактив”, Россия), моногидрофосфат калия “ч. д. а.” (ООО “Компонент-реактив”), агароза “х. ч.” (ООО “Агат-медиа”, Россия).

Приготовленные среды разливали по 50 мл в стеклянные флаконы и стерилизовали путем автоклавирования при 1 избыточной атмосфере. Затем среды разливали асептически по 5 мл в стерильные стеклянные пробирки.

Условия культивирования

В жидкую питательную среду в стеклянных пробирках засеивали асептически культуры E14, P5, P6, P8 по 0.2 мл при помощи дозатора со стерильным пластиковым наконечником.

Культивирование штамма E14 осуществляли при температурах 37 и 40°C, штаммов P5, P6, P8 при температурах 27 и 32°C. в электрическом сушевоздушном термостате ТС-1/80 (“Смоленское СКТБ СПУ”, Россия), длительность культивирования составляла 6 сут.

Экстракция рамнолипидов

Экстракцию рамнолипидов производили согласно методике, описанной в работе [16]. Аликвоту объемом 1 мл шестисуточной культуральной жидкости центрифугировали при 10037 g на центрифуге MiniSpin plus (Eppendorf, Германия). Затем 500 мкл супернатанта переносили в отдельную пробирку добавляли 300 мкл этилацетата и перемешивали смесь на встряхивающей центрифуге Vortex FV-2400 (BIOSAN, Латвия). После центрифугирования на Minispin при 13400 об./мин отбирали верхнюю органическую фазу. Экстрагирование повторяли трижды. Объединенный экстракт собирали в заранее взвешенные на аналитических прецизионных весах Adventurer OHAUS AR2140 (Ohaus, США) пластиковые пробирки Эппендорф. Этилацетат выпаривали при 75°C в настольном термостате ГНОМ (ДНК-Технология, Россия). Затем пробирки повторно взвешивали. Массу осадка определяли по разнице веса пробирок после выпаривания экстракта и значениями веса чистых пробирок

Статистическая обработка полученных данных

В таблицах значения продуктивности представлены в виде средних значений с доверительным интервалом, рассчитанным по критерию Стьюдента для 3 измерений при доверительной вероятности $p = 0.95$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Культивирование гетерологичных продуцентов рамнолипидов штаммов E14 P5, P6, P8 проводили с использованием 2 вариантов источников углерода: (глюкоза, глицерин или глюкоза, глицерин, кукурузное масло) и двух разных источников азота (пептон, сульфат аммония). Источником микроэлементов служил дрожжевой экстракт. Данные о продуктивности штаммов при двух температурах и трех значениях pH приведены в табл. 1.

Согласно данным табл. 1 в качестве донора азота предпочтительнее пептон, поэтому на следующем этапе исследования именно он был ис-

Таблица 1. Продуктивность гетерологичных продуцентов рамнолипидов
Table 1. Productivity of heterologous producers of rhamnolipids

Гетерологичный продуцент	pH	T, °C	Продуктивность гетерологичных продуцентов рамнолипидов, мг/мл					
			Пептон и дрожжевой экстракт			Сульфат аммония и дрожжевой экстракт		
			глюкоза	глицерин	гидролизат кукурузного масла	глюкоза	глицерин	гидролизат кукурузного масла
E14	6.5	37	16.3 ± 0.2	43.2 ± 0.4	–	0.7 ± 0.2	1.4 ± 0.1	–
		40	1.5 ± 0.3	3.5 ± 0.5	–	5.8 ± 0.3	2.1 ± 0.1	–
	7.5	37	0.8 ± 0.2	1.8 ± 0.1	–	0	26.0 ± 0.4	–
		40	2.1 ± 0.3	0	–	0	0	–
	8.3	37	0	4.0 ± 0.1	–	20.7 ± 0.3	18.2 ± 0.1	–
		40	5.1 ± 0.1	0	–	0	0	–
P5	6.5	27	12.3 ± 0.2	14.3 ± 0.1	16.0 ± 0.1	42.3 ± 0.4	0	4.5 ± 0.1
		32	5.4 ± 0.4	38.0 ± 0.2	13.1 ± 0.3	7.1 ± 0.1	8.2 ± 0.2	23.1 ± 0.1
	7.5	27	1.6 ± 0.1	4.1 ± 0.3	24.0 ± 0.1	12.0 ± 1.6	1.1 ± 0.1	10.0 ± 0.1
		32	3.0 ± 0.2	14.2 ± 0.1	15.2 ± 0.2	3.0 ± 1.0	31.2 ± 0.2	21.2 ± 0.1
	8.3	27	2.8 ± 0.4	21.2 ± 1.5	24.1 ± 0.1	0.4 ± 0.1	27.3 ± 0.1	6.0 ± 0.1
		32	3.3 ± 0.3	12.1 ± 0.1	20.2 ± 0.2	2.0 ± 0.3	31.0 ± 0.1	11.0 ± 0.2
P6	6.5	27	0	0	2.3 ± 0.1	42.1 ± 0.2	0	3.9 ± 0.1
		32	2.6 ± 0.6	9.1 ± 0.3	22.0 ± 0.3	2.1 ± 0.1	23.0 ± 0.2	29.1 ± 0.3
	7.5	27	22.4 ± 0.3	18.1 ± 0.1	34.1 ± 0.1	31.1 ± 0.1	0.7 ± 0.1	3.1 ± 0.1
		32	1.8 ± 0.4	17.0 ± 0.1	40.2 ± 0.1	2.5 ± 0.5	20.1 ± 0.3	40.0 ± 0.2
	8.3	27	0	45.2 ± 0.2	34.0 ± 0.2	22.0 ± 0.1	0	5.0 ± 0.1
		32	1.3 ± 0.2	35.1 ± 0.1	11.0 ± 0.1	4.8 ± 0.3	12.0 ± 0.1	25.1 ± 0.2
P8	6.5	27	25.1 ± 0.1	42.1 ± 0.2	1.0 ± 0.1	18.0 ± 0.2	69.1 ± 0.2	25.3 ± 0.1
		32	4.2 ± 0.2	6.7 ± 0.5	22.1 ± 0.2	3.6 ± 0.4	8.4 ± 0.2	13.0 ± 0.2
	7.5	27	0	62.0 ± 0.1	45.0 ± 0.1	2.9 ± 0.1	45.0 ± 0.1	58.2 ± 0.1
		32	3.0 ± 0.1	4.2 ± 0.6	37.2 ± 0.1	3.7 ± 0.3	10.1 ± 0.3	20.1 ± 0.1
	8.3	27	9.4 ± 0.3	71.0 ± 0.1	64.1 ± 0.1	31.0 ± 0.1	30.2 ± 0.1	39.1 ± 0.3
		32	4.7 ± 0.5	18.1 ± 0.3	58.1 ± 0.3	13.1 ± 0.1	17.1 ± 0.1	47.0 ± 0.1

Таблица 2. Продуктивность гетерологичных продуцентов рамнолипидов
Table 2. Productivity of heterologous producers of rhamnolipids

Гетерологичный продуцент	рН	T, °C	Продуктивность гетерологичных продуцентов рамнолипидов, мг/мл		
			талловое масло	соевое масло	лактоза
E14	6.5	37	4.0 ± 0.1	3.0 ± 0.1	5.0 ± 0.1
		40	9.1 ± 0.1	21.2 ± 0.1	14.1 ± 0.2
	7.5	37	6.0 ± 0.2	9.0 ± 0.2	2.0 ± 0.1
		40	14.1 ± 0.2	17.1 ± 0.1	17.0 ± 0.1
	8.3	37	10.2 ± 0.1	3.0 ± 0.1	2.0 ± 0.1
		40	11.0 ± 0.2	15.1 ± 0.1	11.0 ± 0.1
P5	6.5	27	20.0 ± 0.4	29.1 ± 0.3	–
		32	120.3 ± 0.6	65.0 ± 1.2	–
	7.5	27	21.2 ± 0.1	20.1 ± 0.4	–
		32	115.0 ± 1.2	108.0 ± 0.7	–
	8.3	27	25.0 ± 0.2	18.1 ± 0.2	–
		32	52.1 ± 1.3	117.0 ± 0.8	–
P6	6.5	27	9.2 ± 0.3	33.0 ± 0.1	–
		32	67.0 ± 1.2	60.0 ± 0.3	–
	7.5	27	8.0 ± 0.1	24.0 ± 0.1	–
		32	210.1 ± 1.7	72.0 ± 0.6	–
	8.3	27	22.1 ± 0.8	31.0 ± 0.1	–
		32	62.0 ± 0.3	122.0 ± 1.1	–
P8	6.5	27	19.0 ± 0.1	4.0 ± 0.1	–
		32	65.1 ± 0.2	105.0 ± 0.4	–
	7.5	27	6.0 ± 0.1	14.0 ± 0.1	–
		32	115.0 ± 1.3	105.0 ± 0.2	–
	8.3	27	8.0 ± 0.1	41.0 ± 0.1	–
		32	170.0 ± 0.6	172.0 ± 0.3	–

пользован при сравнении других источников углерода талловое масло, соевое масло, лактоза (только E14). Была определена продуктивность штаммов при 2 температурах и 3 значениях рН (табл. 2). При выращивании гетерологичных продуцентов P5, P6, P8 в среду дополнительно вносили 0.15% сульфата магния, 0.15% моногидрофосфата калия.

В ходе данного эксперимента при разных сочетаниях источников азота и углерода в более широком диапазоне исследовали влияние значений рН и температуры на выход рамнолипидов. Дина-

мика изменения продуктивности от этих параметров представлена на рис. 1–4.

Из данных, представленных на графиках, следует, что продуктивность штаммов E14, P5, P6, P8 на гидрофобных источниках углерода (масла) заметно выше, чем на гидрофильных (глицерин и сахара).

При повышении температуры у штаммов E14 (в интервале: 37–40°C), P5, P6, P8 (в интервале 27–32°C) наблюдался рост продуктивности при использовании гидрофобных субстратов.

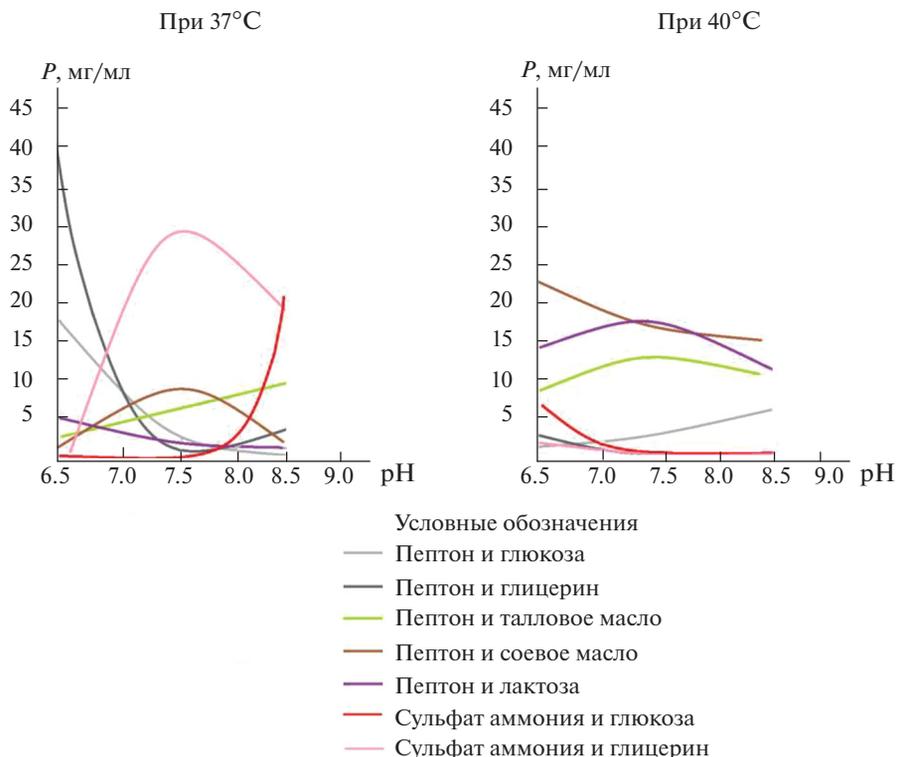


Рис. 1. Зависимость продуктивности (P) от величины pH гетерологичного штамма E14 при 37 и 40°C.
Fig. 1. Dependence of the productivity (P) on the pH value of the heterologous strain E14 at 37 and 40°C.

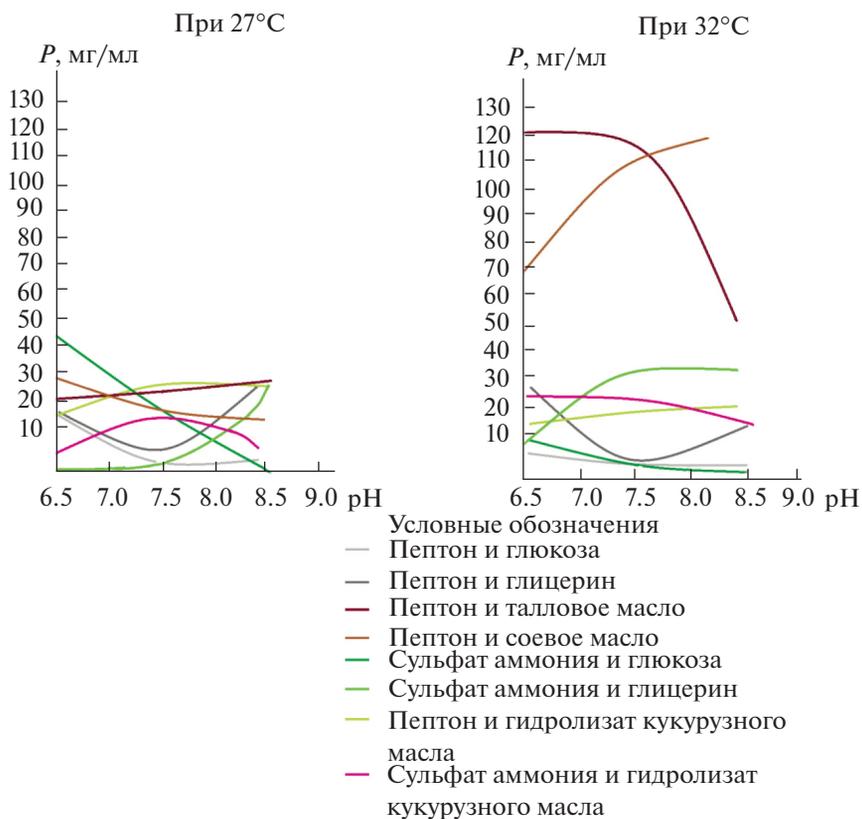


Рис. 2. Зависимость продуктивности (P) от величины pH гетерологичного штамма P5 при 27 и 32°C.
Fig. 2. Dependence of the productivity (P) on the pH value of the heterologous strain P5 at 27 and 32°C.

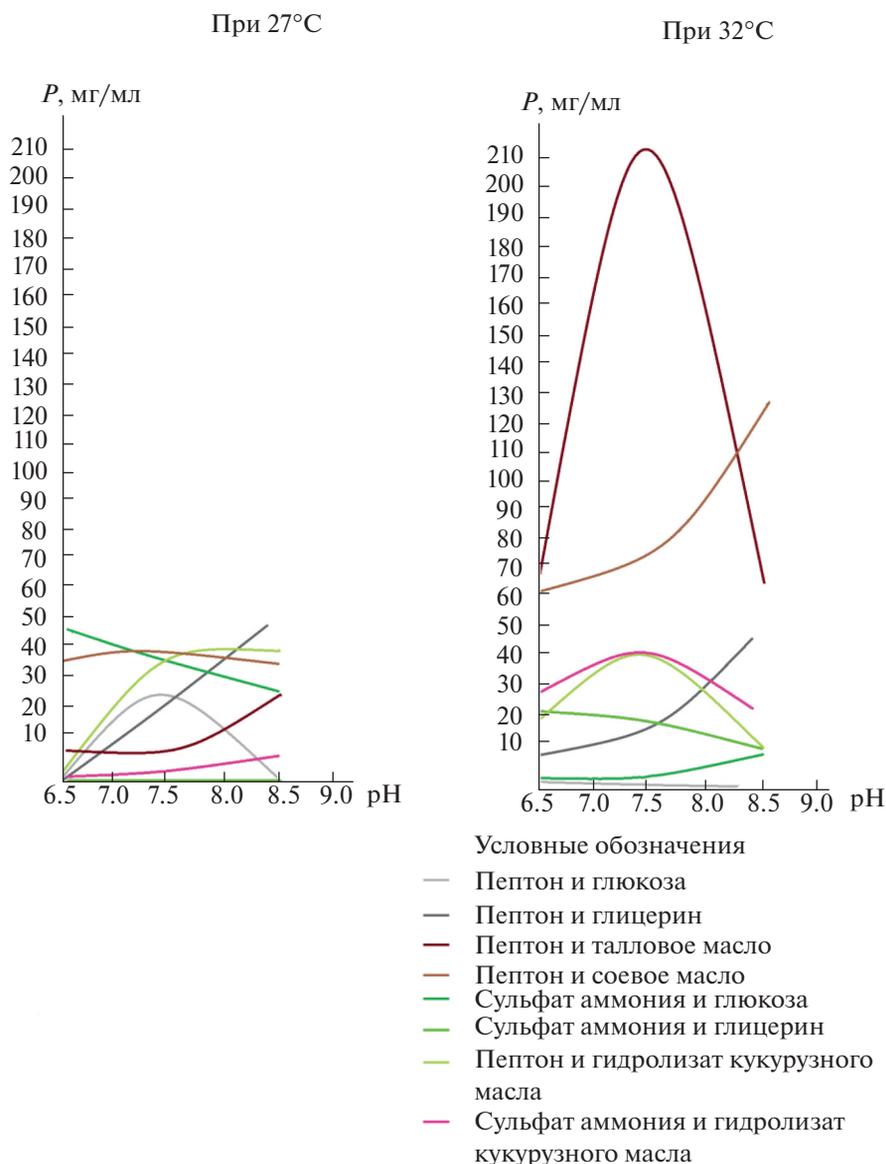


Рис. 3. Зависимость продуктивности (P) от величины pH гетерологичного штамма P6 при 27 и 32°C.
Fig. 3. Dependence of the productivity (P) on the pH value of the heterologous strain P6 at 27 and 32°C.

Полученные нами результаты согласуются с литературными данными, что из источников азота наиболее эффективным является пептон [11, 14]. Важно заметить, что применение в качестве источника азота сульфата аммония и повышении температуры культивирования до 40°C у штамма E14, до 32°C у штаммов P5, P6, P8 продуктивность падала.

При использовании гидрофобных источников углерода таких, как талловое и соевое масло при увеличении pH продуктивность возрастает, но при использовании кукурузного масла продуктивность, наоборот несколько снижается с ростом pH.

Таким образом, в результате проведенных исследований были определены оптимальные условия для культивирования гетерологичных продуцентов рамнолипидов. Для получения наивысшего выхода продукта:

для штамма P5 – состав среды: пептон, талловое масло; pH = 6.5; $T = 32^\circ\text{C}$, с полученной продуктивностью: 120.3 ± 0.6 мг/мл;

для штамма P6 – состав среды: пептон, талловое масло; pH = 7.5; $T = 32^\circ\text{C}$, с полученной продуктивностью: 210.1 ± 1.7 мг/мл;

для штамма P8 – состав среды: пептон, соевое масло; pH = 8.3; $T = 32^\circ\text{C}$; с полученной продуктивностью: 172.0 ± 0.3 мг/мл;

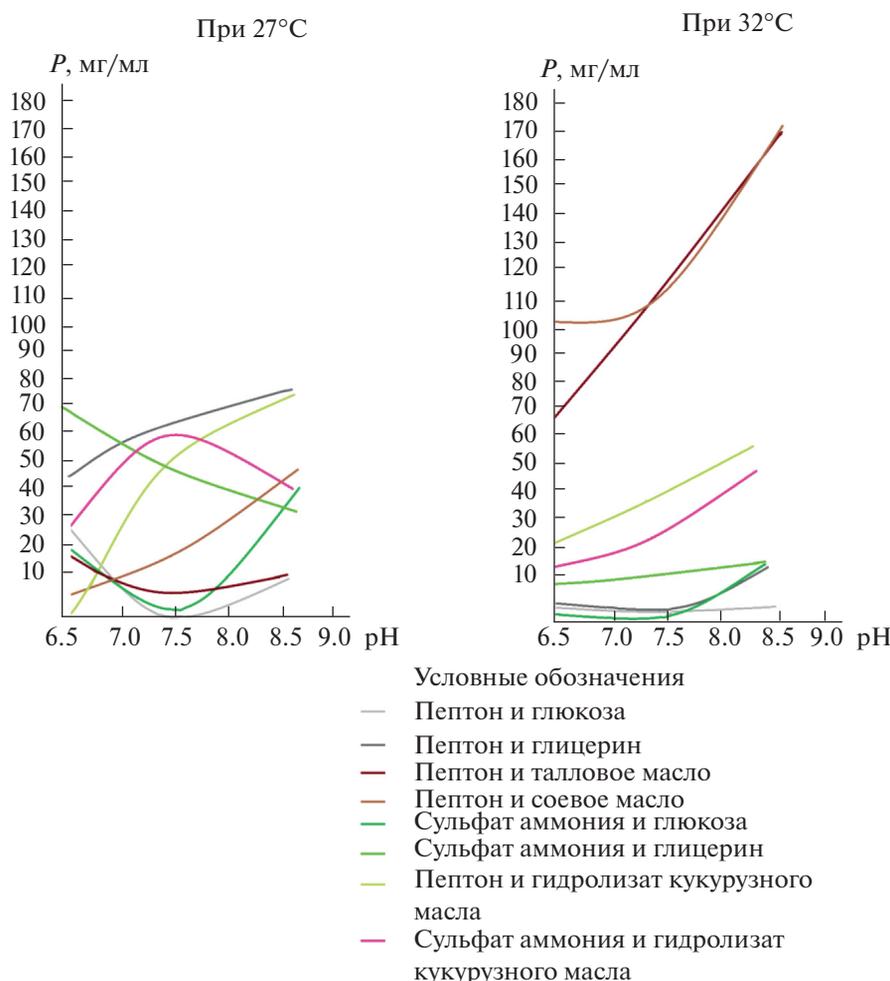


Рис. 4. Зависимость продуктивности (P) от величины pH гетерологичного штамма P8 при 27 и 32°C.

Fig. 4. Dependence of the productivity (P) on the pH value of the heterologous strain P8 at 27 and 32°C.

для штамма E14 – состав среды: пептон, глицерин; pH = 6.5; $T = 37^\circ\text{C}$ с полученной продуктивностью: 43.2 ± 0.4 мг/мл.

Для штамма E14 могут быть использованы пептон и соевое масло при pH = 6.5 и температуре 40°C , обеспечивающие выход продукта: 20.7 ± 0.3 мг/мл.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Eslami P., Hajjarajollah H., Bazsefidpar S.* Recent advancements in the production of rhamnolipid biosurfactants by *Pseudomonas aeruginosa*. *RSC Adv.*, 2020, 10(56). <https://doi.org/10.1039/d0ra04953k>
2. *Soberón-Chávez G., González-Valdez A., Soto-Aceves M.P., Cocotl-Yañez M.* Rhamnolipids produced by *Pseudomonas*: from molecular genetics to the market. *Microb. Biotechnol.*, 2021, 14(1), 136–146. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13700>
3. *Thakur P., Saini N.K., Thakur V.K., Gupta V.K., Saini R.V., Saini A.K.* Rhamnolipid the Glycolipid Biosurfactant: Emerging trends and promising strategies in the field of biotechnology and biomedicine. *Microb. Cell Fact.*, 2021, 20(1). <https://doi.org/10.1186/s12934-020-01497-9>
4. *Chong H., Li Q.* Microbial production of rhamnolipids: opportunities, challenges and strategies. *Microb. Cell Fact.*, 2017, 16. <https://doi.org/10.1186/s12934-017-0753-2>
5. *Karamchandani B.M., Pawar A.A., Pawar S.S., Syed S., Mone N.S., Dalvi S.G., Rahman P.K.S.M., Banat I.M., Satpute S.K.* Biosurfactants' multifarious functional potential for sustainable agricultural practices. *Front. Bioeng. Biotechnol.*, 2022, 10. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.1047279>
6. *Wittgens A., Rosenau F.* Heterologous Rhamnolipid Biosynthesis: Advantages, Challenges, and the Opportunity to Produce Tailor-Made Rhamnolipids. *Front. Bioeng. Biotechnol.*, 2020, 8. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.594010>

7. Ozdal M., Gurkok S., Ozdal O.G. Optimization of rhamnolipid production by *Pseudomonas aeruginosa* OG1 using waste frying oil and chicken feather peptone. *3 Biotech.*, 2017, 7.
<https://doi.org/10.1007/s13205-017-0774-x>
8. Radzuan M.N., Banat I.M., Winterburn J. Production and characterization of rhamnolipid using palm oil agricultural refinery waste. *Bioresour. Technol.*, 2017, 225, 99–105.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.11.052>
9. Rahman K.S., Rahman T.J., McClean S., Marchant R., Banat I.M. Rhamnolipid biosurfactant production by strains of *Pseudomonas aeruginosa* using low-cost raw materials. *Biotechnol. Prog.*, 2002, 18(6), 1277–1281.
<https://doi.org/10.1021/bp020071x>
10. George S., Jayachandran K. Production and characterization of rhamnolipid biosurfactant from waste frying coconut oil using a novel *Pseudomonas aeruginosa* D. *J. Applied Microbiol.*, 2013, 114(2), 373–383.
<https://doi.org/10.1111/jam.12069>
11. Sharma R., Singh J., Verma N. Optimization of rhamnolipid production from *Pseudomonas aeruginosa* PBS towards application for microbial enhanced oil recovery. *3 Biotech.*, 2018, 8(1).
<https://doi.org/10.1007/s13205-017-1022-0>
12. Thavasi R., Subramanyam Nambaru V.R., Jayalakshmi S., Balasubramanian T., Banat I. M. Biosurfactant Production by *Pseudomonas aeruginosa* from Renewable Resources. *Ind. J. Microbiol.*, 2011, 51(1), 30–36.
<https://doi.org/10.1007/s12088-011-0076-7>
13. Tan Y.N., Li Q. Microbial production of rhamnolipids using sugars as carbon sources. *Microb. Cell Fact.*, 2018, 17(1).
<https://doi.org/10.1186/s12934-018-0938-3>
14. Kłosowska-Chomiczewska I.E., Macierzanka A., Parchem K., Miłosz P., Bładowska S., Płaczkowska I., Hewelt-Belka W., Jungnickel C. Microbe cultivation guidelines to optimize rhamnolipid applications. *Sci. Rep.*, 2024, 14, 8362.
<https://doi.org/10.1038/s41598-024-59021-7>
15. Барамзин М.Н., Литвинец С.Г., Мартинсон Е.А. Получение гетерологичных продуцентов рамнолипидов для промышленного производства высокоэффективного биосурфактанта. *Теоретическая и прикладная экология*, 2024, 2, 135–142.
<https://doi.org/10.25750/1995-4301-2024-2-135-142>
16. Ramya Devi K.C., Sundaram R.L., Vajiravelu S., Vasudevan V., Gnanambal M.E.K. Structure elucidation and proposed de novo synthesis of an unusual monorhamnolipid by *Pseudomonas guguanensis* from Chennai Port area. *Sci. Rep.*, 2019, 9(1).
<https://doi.org/10.1038/s41598-019-42045-9>

Selection of the Optimal Medium Composition and Cultivation Conditions for Maximum Yield of Rhamnolipids from Heterologous Producers

M. N. Baramzin^{a, #}, and S. G. Litvinets^a

^aFederal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Vyatka State University”, Kirov, 610000 Russia

[#]e-mail: mishabaramzin@yandex.ru

Abstract—Rhamnolipids are highly effective microbial surfactants that can be used as a component of cosmetics and detergents. Heterologous expression of rhamnolipid genes is a way to avoid complex regulation of rhamnolipid biosynthesis. The composition of medium and cultivation conditions of rhamnolipid producers were optimized. For heterologous *Pseudomonas viridiflava* A1C1223: P5, P6, P8, when using soybean and tall oil as a carbon source, the maximum yield of the product was obtained, which amounted to: 120.3 ± 0.6 , 210.1 ± 1.7 , 172 ± 0.3 mg/mL, respectively; in heterologous *Escherichia coli* BLWT: E14, the highest product yield (43.2 ± 0.4 mg/mL) was observed using glycerol. In all cases, peptone, as a nitrogen source, had a positive effect on rhamnolipid yield. For E14, the best source of trace elements is yeast extract, and for P5, P6, P8 — a mixture of salts: magnesium sulfate and potassium monohydrophosphate. Increase in temperature and pH has a positive effect on productivity when hydrophobic substrates are used.

Keywords: rhamnolipids, heterologous producers, selection of cultivation conditions, increase in product yield