

Т. Я. Покинсьброда¹, О. В. Карпенко¹, В. І. Лубенець², Н. Б. Мартинюк³, І. М. Зінь⁴

¹Відділення фізико-хімії горючих копалин

Інституту фізико-органічної хімії і вуглехімії ім. Л. М. Литвиненка НАН України,

²Національний університет “Львівська політехніка”,

³ДП “Ензим”,

⁴Фізико-механічний інститут ім. Г. В. Карпенка НАН України

БІОСИНТЕЗ ПАР МІКРООРГАНІЗМАМИ РОДІВ *PSEUDOMONAS* НА СОЄВОЙ ОЛІЇ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ ЇХ ВЛАСТИВОСТЕЙ

© Покинсьброда Т. Я., Карпенко О. В., Лубенець В. І., Мартинюк Н. Б., Зінь І. М., 2017

Встановлена ефективність застосування соєвої олії як дешевого субстрату для синтезу поверхнево-активних речовин (біоПАР) *Pseudomonas* sp. PS-17 та *P. fluorescens* 8573. Для оптимізації виробництва біоПАР цих штамів доцільно проводити виділення рамноліпідів кислотним осадженням, отримавши концентрат рамноліпідів, а надосадову рідину використовувати для технологій, які не потребують великої концентрації ПАР. Розроблені композиції на основі синтезованих біоПАР мають великі перспективи як інгібітори корозії та препарати для рослинництва.

Ключові слова: біогенні поверхнево-активні речовини, рамноліпіди, інгібітори корозії, антимікробна активність.

T. Ya. Pokynbroda¹, O. V. Karpenko¹, V. I. Lubenets², N. B. Martynyuk³, I. M. Zin⁴

BIOSYNTHESIS OF SURFACTANTS BY MICROORGANISMS OF THE GENERA *PSEUDOMONAS* ON SOYBEAN OIL AND INVESTIGATION OF THEIR PROPERTIES

© Pokynbroda T. Y., Karpenko O. V., Lubenets V. I., Martynyuk N. B., Zin I. M., 2017

Efficiency of use of the soybean oil as a cheap substrate for synthesis of biosurfactants of strains *Pseudomonas* sp. PS-17 and *P. fluorescens* 8573 was established. It was shown that optimization of these biosurfactants production is expedient to be carried out by means of the rhamnolipids isolation by acid deposition. As a result, it is possible to obtain a concentrate of rhamnolipids, and to use supernatant for technologies that do not require high concentrations of biosurfactants. The developed compositions based on synthesized biosurfactants have significant promise as corrosion inhibitors and preparatios for crop production.

Key words: biosurfactants, rhamnolipids, corrosion inhibitors, antimicrobial activity.

Постановка проблеми і її зв'язок з важливими науковими завданнями. Для сучасної біотехнології важливим завданням є розроблення технологій продуктів, найперспективніших для практичного використання. Проте економіка виробництва є основним “вузьким” місцем як у технологіях біогенних поверхнево-активних речовин (біосурфактантів, біоПАР), так і у більшості біотехнологічних процесів. Через високу вартість субстратів для культивування та витрати на виділення продуктів зростає потреба у нових штаммах, що здатні синтезувати поверхнево-активні речовини на недорогих ростових субстратах, бажано з поновлюваної сировини, а також у спрощенні й здешевленні процесів вилучення біосурфактантів.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Тип джерела вуглецю для мікробного синтезу ПАР та його кількість може значно впливати на собівартість продукції: вартість сировини переважно становить 10–30 % від загальної вартості виробництва. Отже, щоб зменшити ці витрати бажано використовувати недорогі субстрати для виробництва біоПАР. Спектр економічно вигідної сировини включає дешеві рослинні олії, відходи нафтової промисловості, молочно-кислого, спиртового виробництв, агропромислового комплексу. Так, серед рослинних олій заслуговують на увагу кокосова і кукурудзяна [1], порівняно дешеві соняшникова, ріпакова та соєва олії [2, 3]. Використовують й різні відпрацьовані олії (відходи смаження тощо), а також відходи рафінування олій [4]. Штами роду *Pseudomonas* (*P. ceracia*, *P. acidovorans*, *P. picketti* і *P. fluorescens*) культивували на різних субстратах – недорогих для біосинтезу ПАР [5]. Найкращий результат був отриманий для *P. ceracia* на середовищі з 2,0 % рідкого кукурудзяного екстракту і 2,0 % соєвої олії (відходи смаження). Поверхневий натяг культуральної рідини (КР) був 27,57 мН/м, отримано 5,2 г/л біоПАР. Випробування в екстремальних умовах (рН, температура і вміст NaCl) показало стабільність одержаних ПАР, що важливо для застосування в очищенні нафтозабруднених середовищ. Ступінь видалення моторної оливи з глинистого ґрунту був понад 80 %, експерименти з відмивання каменів від моторної оливи також показали ефект більше як 80 %.

Відомо також про використання патоки, кукурудзяного екстракту, відходів молочної промисловості та сирної сироватки (відходи виробництва сиру) як джерел вуглецю й азоту для виробництва рамноліпідних ПАР *P. aeruginosa* [6]. Показана доцільність використання побічних продуктів олійної промисловості, а саме: рослинної олії, промислових залишків, дезодорованого дистилату, соапстоку тощо [7]. У попередніх дослідженнях з успіхом використано як джерело вуглецю для бактерій роду *Pseudomonas* соняшникову олію [8] та технічний гліцерин – побічний продукт виробництва біодизелю [9]. Отже, багато різноманітних відходів промисловості і сільського господарства мають великий потенціал як субстрати для вирощування мікроорганізмів і виробництва біосурфактантів.

Мета роботи – дослідити синтез поверхнево-активних речовин (біоПАР) штамми *Pseudomonas* sp. PS-17, *P. Fluorescens* 8573 та *P. Aureofaciens* NB-1 на поживних середовищах з соєвою олією, дослідити фізико-хімічні, антикорозійні та антимікробні властивості отриманих біосурфактантів.

Експериментальна частина. Для досліджень використовували бактеріальні штами: *Pseudomonas* sp. PS-17, *P. fluorescens* 8573 та *P. aureofaciens* NB-1 – продуценти позаклітинних поверхнево-активних речовин (ПАР) з колекції мікроорганізмів Відділення ФХГК ІнФОВ ім. Л. М. Литвиненка НАН України. Культивування бактерій роду *Pseudomonas* проводили у колбах Ерленмейєра (750 см³) на ротаційному шейкері 180 об/хв (WL-2000, JVElectronic, Польща), температура 30 °С, тривалість культивування – 5 діб на поживних середовищах (г/дм³): NaNO₃ – 4,0; K₂HPO₄×3H₂O – 2,0; KH₂PO₄ – 1,2; MgSO₄×7H₂O – 0,5; натрій цитрат – 4,0; гліцерин (або олія соєва чи суміш олій соєвої та гліцерину у співвідношенні 1:3) – 40,0; рН – 7,0. Як інокулянт використовували 24-годинну культуру (титр клітин 2×10⁸ КУО/мл) у кількості 10 % від об'єму поживного середовища такого самого складу з гліцерином як джерелом вуглецю.

Біомасу та рамноліпідний біокомплекс (РБК) визначали гравіметрично. РБК виділяли із супернатанту культуральної рідини (СКР) за допомогою її підкислення 10 %-м розчином HCl до рН 3,0, витримували 12 год за температури 4 °С та відділяли центрифугуванням (8000 об/хв, 20 хв), одержуючи осад – РБК та надосадову рідину – НОР. Поверхневий натяг (ПН) визначали методом Дю-Нуї за допомогою платинового кільця на тензіометрі KRÜSS K6 (“KRÜSS” GmbH, Germany) [10]. Для визначення індексу емульгування СКР (E₂₄) використовували вазелінову оливу та соняшникову олію [11]. Поверхнево-активні речовини виділяли екстракцією з СКР та НОР сумішшю Фолча чи етилацетатом з ізопропанолом у співвідношенні (2:1) з подальшим упарюванням органічної фази під вакуумом до постійної маси кінцевого продукту. Кількість ліпідів

визначали гравіметричним методом. Якісний аналіз ліпідів здійснювали методом тонкошарової хроматографії (ТШХ) на пластинках Мерск (Німеччина), рухома фаза хлороформ–метанол-вода (65:25:4). Візуалізацію хроматограм проводили 5 %-м спиртовим розчином фосфорно-молібденової кислоти (загальні ліпіди), орциновим реагентом (рамноліпіди) та альфа-нафтолом (гліколіпіди) [12].

Експерименти щодо визначення ефективності отриманих біоПАР як інгібіторів корозії проводили на попередньо зважених на аналітичній вазі сталевих пластинах розміром 50×50×5 мм за кімнатної температури у середовищі 0,1 % NaCl за методикою [13]. В корозивне середовище як інгібіторив корозії додавали супернатанти культуральної рідини чи надосадову рідину після осадження РБК та витримували протягом 7 діб. Після цього зразки очищали від продуктів корозії, зважували та розраховували швидкість корозії, глибинний показник швидкості корозії та ступінь захисту металу.

Антимікробну активність СКР *P. fluorescens*8573 та *P. aureofaciens*NB-1 щодо штамів-фітопатогенів *Pseudomonas syringae*УКМВ-1027^г, *Clavibactermichiganensis*УКМ АС-630^г, *Agrobacteriumtumefaciens*УКМ В-1000, *Erwiniaamylovora* УКМ В-1104 та *Xanthomonascampestris* УКМ В-1049з Української колекції мікроорганізмів оцінювали за мінімальними значеннями інгібувальної (МІК) і бактерицидної (МБК) концентрацій препаратів [14]. Культивування тестових фітопатогенів проводили у колбах Ерленмейєра (750 мл) з робочим об'ємом 150 мл на ротаційній качалці (220 об/хв) за 30 °С на рідких поживних середовищах [15]. Досліджувані розчини СКР стерилізували в автоклаві і розливали в одноразові планшети зі стерильним поживним середовищем, послідовно розводили та додавали 1-добову культуру мікроорганізмів-фітопатогенів 1×10^9 КУО/см³ у кількості 0,1 мл. Планшети витримували у термостаті за температури 37 °С протягом 20 год. Мінімальна концентрація препарату, яка давала повну видиму затримку росту культури (прозорий бульйон) відповідала МІК цього препарату щодо тестових штамів, що визначало ступінь їх чутливості. Для визначення ступеня бактерицидної дії препарату із останніх прозорих лунок проводили висів на універсальне агаризоване середовище. За МБК дослідних препаратів приймали найменшу їх концентрацію у лунці, висів із якої після інкубації не давав росту на твердому середовищі.

Виклад основного матеріалу і обговорення результатів. Досліджено синтез ПАР штамми мікроорганізмів родів *Pseudomonas*, а саме: *Pseudomonas* sp. PS-17, *P. fluorescens*8573 та *P. aureofaciens*NB-1 на середовищах з соєвою олією та гліцирином як джерелами вуглецю, а також досліджені їхні деякі фізико-хімічні та антимікробні властивості.

Отримано та проаналізовано продукти біосинтезу *Pseudomonas* sp. PS-17 – супернатант культуральної рідини (СКР), загальні ліпіди, рамноліпідний біокомплекс (РБК) та надосадову рідину після його осадження (НОР) під час культивування на соєвій олії (як економічно вигідному субстраті), гліцирині та суміші соєвої олії з гліцирином (табл. 1). Показано, що під час культивування штаму на соєвій олії зростає біомаса, вихід РБК та ліпідів порівняно з гліцирином та сумішню субстратів, проте індекс емульгування знижується від 60 % на гліцирині та суміші до 45 % на олії. Це може свідчити про те, що якісний склад ліпідів змінюється. Тобто для культивування цього штаму можна використовувати як гліцирин, так і суміш соєвої олії та гліцирину. Отримано і проаналізовано продукти біосинтезу *P. fluorescens* 8573 – супернатант культуральної рідини, загальні ліпіди, біокомплекс та надосадову рідину під час культивування штаму на соєвій олії, гліцирині та суміші соєвої олії з гліцирином. Тут спостерігається така сама тенденція – збільшення біомаси, виходу РБК та ліпідів на соєвій олії порівняно з гліцирином та сумішню субстратів. Проте індекс емульгування падає від 58–60 % на суміші та гліцирині до 40 % на олії. Фізико-хімічні властивості продуктів синтезу *Pseudomonas* sp. PS-17, *P. fluorescens*8573 та *P. aureofaciens*NB-1 культивованих на різних субстратах наведені у табл. 1.

Проаналізовано надосадові рідини після осадження комплексів штамів *Pseudomonas* sp. PS-17 та *P. fluorescens*8573 та показано, що у НОР залишається близько 2–8 г/л ліпідів, залежно від

вибраного джерела вуглецю для культивування. Тобто для виділення рамноліпідів із СКР цих штамів доцільно використовувати кислотне осадження, отримавши концентрат РБК, а надосадову рідину після її нейтралізації (доведення рН до 7) використовували у рослинництві чи інших галузях, наприклад, в антикорозійних композиціях, де не потрібна надто висока концентрація ПАР. Отже, отримуємо фактично безвідходне виробництво – уся культуральна рідина застосовується та оминається стадія екстракції розчинниками, що впливає на ціну біосурфактантів.

Отримано та проаналізовано продукт біосинтезу *P. aureofaciens* NB-1 – супернатант культуральної рідини. Визначено його фізико-хімічні властивості (табл. 1). Показано, що найбільша кількість ПАР синтезується під час культивування штаму на гліцерині, про що свідчить низький поверхневий натяг (29 мН/м) СКР та високий індекс емульгування – 50 %. Високі виходи ліпідів на суміші субстратів та соєвій олії пов'язані, ймовірно, із неповним засвоєнням гідрофобного субстрату (за даними тонкошарової хроматографії). Тобто для отримання препарату культури *P. Aureofaciens* NB-1 найвдалішим джерелом вуглецю є гліцерин.

Таблиця 1

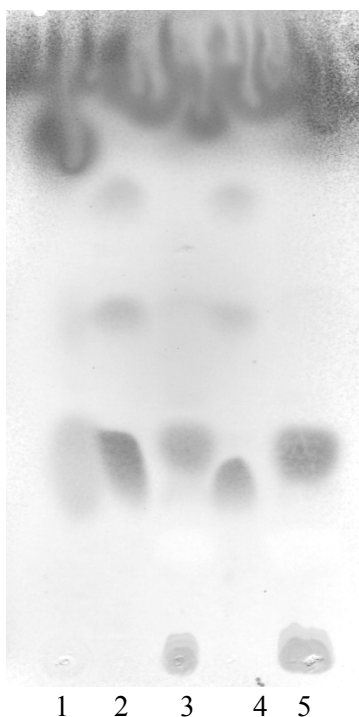
Ріст та синтез ПАР штамми роду *Pseudomonas*

| Штам | Джерело вуглецю, 4 % | Біомаса, г/л | Ліпіди, г/л | РБК, г/л | Поверхневий натяг, мН/м | E ₂₄ , % (олія/ваз. оліва) | Ліпіди у НОР, г/л |
|---------------------------------------|-------------------------------|--------------|-------------|----------|-------------------------|---------------------------------------|-------------------|
| <i>Pseudo- monas</i> sp. PS-17 | Соєва олія | 3,9 | 8,2 | 9,8 | 29 | 45/8 | 8,1 |
| | Соєва олія з гліцерином (1:3) | 3,6 | 7,7 | 7,0 | 29 | 60/10 | 6,4 |
| | гліцерин | 3,3 | 5,5 | 5,1 | 29 | 60/6 | 1,8 |
| <i>P. fluore- scens</i> | Соєва олія | 3,1 | 9,4 | 10,5 | 28 | 40/5 | 8,2 |
| | Соєва олія з гліцерином (1:3) | 4,9 | 8,4 | 7,6 | 28 | 58/12 | 6,7 |
| | гліцерин | 2,9 | 5,3 | 5,2 | 28 | 60/12 | 1,9 |
| <i>P. aureo- faciens</i> NB-1 | Соєва олія | 3,9 | 6,8 | - | 39 | 2/0 | - |
| | Соєва олія з гліцерином (1:3) | 3,8 | 5,4 | - | 31 | 6/0 | - |
| | гліцерин | 3,3 | 3,1 | - | 29 | 50/0 | - |

На рисунку показано тонкошарові хроматограми ліпідних екстрактів СКР штамів *P. Aureofaciens* NB-1 (1, екстракція сумішшю етилацетат-ізопропанол 2:1), *Pseudomonas* sp. PS-17 (2, екстракція сумішшю Фолча), надосадової рідини штаму *Pseudomonas* sp. PS-17 (3, екстракція сумішшю етилацетат-ізопропанол 2:1), *P. fluorescens* 8573 (4, екстракція сумішшю Фолча) та надосадової рідини штаму *P. fluorescens* 8573 (5, екстракція сумішшю етилацетат-ізопропанол 2:1). Рухома фаза – хлороформ-метанол вода (65:15:4), за візуалізації фосфорно-молібденовою кислотою.

Отже, показано, що продукти біосинтезу усіх штамів ефективно знижують поверхневий натяг та емульгують рослинні олії під час культивування їх на гліцерині або на суміші гліцерину із соєвою олією.

Рамноліпідний біокомплекс є одним із найперспективніших продуктів *Pseudomonas* sp. PS-17. На основі раніше проведених досліджень показано, що РБК є ефективним інгібітором корозії сталі та алюмінієвого сплаву. Цікаво було дослідити вплив й інших біоПАР на корозію металів. Для цього отримано та проаналізовано фізико-хімічні властивості таких продуктів біосинтезу *Pseudomonas* sp. PS-17 та *P. fluorescens* 8573 – СКР, НОР, а також СКР *P. aureofaciens* NB-1, вирощені на гліцерині або соєвій олії (табл. 2).



ТШХ загальних ліпідів СКР
штамів *P. aureofaciens*NB-1(1),
Pseudomonas sp. PS-17(2), НОР *Pseudomonas* sp.
PS-17 (3) *P. fluorescens*8573 (4)
та НОР *P. fluorescens*8573 (5)

Таблиця 2

**Фізико-хімічні властивості біогенних ПАР, на основі яких
створювались інгібувальні композиції**

| Штам | Продукт | Джерело вуглецю | Ліпіди, г/л | Поверхневий натяг, мН/м | Емульгування соняшникової олії,% E ₂₄ |
|------------------------------|---------|--------------------|----------------|----------------------------|---|
| <i>P. aureofaciens</i> NB-1 | СКР | гліцерин | 3,9 | 29 | 50 |
| <i>Pseudomonas</i> sp. PS-17 | НОР | гліцерин | 1,8 | 37 | 10 |
| | | соєва олія | 8,2 | 35 | 35 |
| <i>P. fluorescens</i> 8573 | СКР | гліцерин | 5,3 | 28 | 45 |
| | | соєва олія | 8,4 | 28 | 50 |
| | НОР | гліцерин | 1,9 | 32 | 35 |
| | | соєва олія | 8,1 | 33 | 50 |

Показано, що продукти біосинтезу досліджених штамів ефективно знижують поверхневий натяг розчинів та емульгують рослинні олії. У подальших експериментах готували інгібувальні композиції на основі СКР *P. fluorescens* 8573 (PF) та *P. aureofaciens*NB-1 (PA), а також НОР *Pseudomonas* sp. PS-17 (НОР PS) та *P. fluorescens* 8573 (НОР PF) та оцінювали їхній вплив на корозію сталевих пластинок в агресивних середовищах з 0,1 % NaCl. Як контроль використовували 0,1 % NaCl (неінгібоване середовище). Експериментальні дослідження проводили спільно з ФМІ ім. Г. В. Карпенка (табл. 3).

Як бачимо з табл. 3, препарати СКР штамів *P. fluorescens* 8573 та *P. aureofaciens*NB-1 інгібують корозію сталі під час їх розведення до 1:5 та 1:10, відповідно (ступінь захисту 80–95 %). Досліджуючи НОР обох штамів, культивованих на гліцерині, показано, що їх доцільно використовувати за розведень 1:3 (ступінь захисту – 88–91 %). НОР штаму *Pseudomonas* sp. PS-17, отриманого на соєвій олії також має антикорозійні властивості (ступінь захисту – 79-81 %). Тобто можна створювати ефективні інгібувальні композиції на основі СКР штамів *P. fluorescens* 8573 та *P. aureofaciens*NB-1, а також НОР *P. fluorescens* 8573 і *Pseudomonas* sp. PS-17.

Таблиця 3

Вплив СКР та НОР штамів *Pseudomonassp.* PS-17, *P. fluorescens* 8573, *P. aureofaciens* NB-1 на корозію сталевих пластинок в середовищі 0,1 % NaCl

| № | Інгібувальна композиція | | Швидкість корозії $K_m \times 10^6$, г/см ² ·год | Ступінь захисту, % | Глибинний показник швидкості корозії, П мм/рік |
|----|---|---|--|--------------------|--|
| | Поверхнево-активний продукт штаму | Розведення | | | |
| 1 | Неінгібоване середовище | | 9,5 | - | 0,12 |
| 2 | СКР <i>P. fluorescens</i> 8573, джерело вуглецю – гліцерин | 1:5 | 1,85 | 81 | 0,023 |
| 3 | | 1:10 | 2,7 | 72 | 0,034 |
| 4 | | 1:25 | 5,14 | 47 | 0,065 |
| 5 | | 1:50 | 5,7 | 41 | 0,064 |
| 6 | | 1:75 | 5,7 | 41 | 0,064 |
| 7 | | СКР <i>P. aureofaciens</i> NB-1, джерело вуглецю – гліцерин | 1:5 | 0,44 | 95 |
| 8 | 1:10 | | 1,6 | 83 | 0,021 |
| 9 | 1:25 | | 8,05 | 17 | 0,102 |
| 10 | 1:50 | | 8,08 | 16 | 0,102 |
| 11 | 1:75 | | 7,84 | 19 | 0,099 |
| 12 | НОР <i>P. fluorescens</i> 8573, джерело вуглецю – гліцерин | 1:1 | 1,01 | 88 | 0,013 |
| 13 | | 1:3 | 0,74 | 91 | 0,0094 |
| 14 | НОР <i>P. fluorescens</i> 8573, джерело вуглецю – соєва олія | 1:1 | 3,67 | 59 | 0,047 |
| 15 | | 1:3 | 4,68 | 48 | 0,059 |
| 16 | НОР <i>Pseudomonassp.</i> PS-17, джерело вуглецю – гліцерин | 1:1 | 1,01 | 88 | 0,013 |
| 17 | | 1:3 | 1,05 | 88 | 0,013 |
| 18 | НОР <i>Pseudomonassp.</i> PS-17, джерело вуглецю – соєва олія | 1:1 | 1,84 | 79 | 0,023 |
| 19 | | 1:3 | 1,68 | 81 | 0,021 |

Для визначення можливості застосування продуктів біосинтезу штамів *P. aureofaciens* NB-1 та *P. fluorescens* 8573 у сільському господарстві для боротьби із бактеріальними хворобами рослин досліджували їх антимікробну активність щодо деяких фітопатогенів (табл. 4).

Таблиця 4

Вплив супернатантів культуральних рідин *P. Aureofaciens* NB-1 та *P. fluorescens* 8573 на антимікробну активність фітопатогенів

| Культури мікроорганізмів | СКР штаму <i>P. aureofaciens</i> NB-1 | | СКР <i>P. fluorescens</i> 8573 | |
|--|---------------------------------------|-----------------|--------------------------------|-----------------|
| | МІК, розведення | МБК, розведення | МІК, розведення | МБК, розведення |
| <i>Clavibacter michiganensis</i> УКМ АС-630 ^Т | не чутливий | не чутливий | не чутливий | не чутливий |
| <i>Agrobacterium tumefaciens</i> В-1000 | 1:64 | 1:16 | 1:64 | 1:4 |
| <i>Pseudomonas syringae</i> УКМВ-1027 ^Т | 1:16 | 1:8 | не чутливий | не чутливий |
| <i>Erwinia amylovora</i> УКМ В-1104 | не чутливий | не чутливий | 1:64 | 1:64 |
| <i>Xanthomonas campestris</i> УКМ В-1049 | не чутливий | не чутливий | 1:32 | 1:32 |

Показано, що супернатанти культуральних рідин штамів *P. aureofaciens* NB-1 та *P. fluorescens* 8573 мають антимікробну активність, причому тільки *Clavibacter michiganensis* УКМ АС-630^Т виявився нечутливим до ПАР обох культур. До ПАР штаму *P. Fluorescens* 8573 також не чутливий фітопатоген *P. syringae* УКМВ-1027^Т, а штам *E. amylovora* УКМ В-1104 не реагує на СКР

*P. aureofaciens*NB-1. Такі специфічні властивості мікробних ПАР (*P. aureofaciens*NB-1 та *P. fluorescens* 8573) можна використати у сільському господарстві для створення комплексних засобів захисту рослин від хвороб бактеріального походження.

Висновки. Встановлено, що досліджені штами синтезують біоПАР, які ефективно знижують поверхневий натяг розчинів та емульгують гідрофобні речовини. Штами *Pseudomonas* sp. PS-17 та *P. fluorescens* 8573 утилізують соєву олію як економічно вигідний субстрат. Для виділення рамноліпідів із СКР цих штамів доцільно використовувати кислотне осадження, отримавши концентрат – РБК, а надосадову рідину використовувати як інгібітор корозії. Отже, можна безвідходно використовувати постферментаційну культуральну рідину та істотно здешевити біоПАР за рахунок відсутності стадії їх екстрагування. Розроблені композиції на основі біоПАР мають великі перспективи не тільки як інгібітори корозії, а й для сільського господарства – для боротьби з хворобами рослин або для рекультивації забруднених ґрунтів.

1. Evaluation of different carbon and nitrogen sources in production of biosurfactant by *Pseudomonas fluorescens* / M. Abouseouda, R. Maachi, A. Amranec [et al.] // *Desalination*. – 2008. – Vol. 223. – P. 143–151.
2. Pekin G. Production of Sophorolipids from *Candida bombicola* ATCC 22214 Using Turkish Corn Oil and Honey / G. Pekin, F. Vardar-Sukan, N. Kosaric // *Engineering in Life Sciences*. – 2005. – Vol. 5. – P. 357–362.
3. Rhamnolipid biosurfactant production by strains of *Pseudomonas aeruginosa* using low-cost raw materials / P. K. S. M. Rahman, T. J. Rahman, S. McClean [et al.] // *Biotechnology Progress*. – 2002. – Vol. 18. – P. 1277–1281.
4. George S. Production and characterization of rhamnolipid bio-surfactant from waste frying coconut oil using a novel *Pseudomonas aeruginosa*D / Seba George, Kizhakkedathu Jayachandran // *Journal of Applied Microbiology*. – 2013. – Vol. 114. – P. 373–383.
5. Screening of *Pseudomonas* species for biosurfactant production using low-cost substrates / N. M. P. Rocha e Silva, R. D. Rufino, J. M. Luna [et al.] // *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. – 2014. – Vol. 3. – P. 132–139.
6. Dubey K. Determination of genetic basis for biosurfactant production in distillery and curd whey wastes utilizing *Pseudomonas aeruginosa* strain BS2 / Kirti Dubey, Asha Juwarkar // *Indian Journal of Biotechnology*. – 2004. – Vol. 3. – P. 74–81.
7. Bhardwaj G. Utilization of oleo-chemical industry by-products for biosurfactant production / G. Bhardwaj, S. S. Cameotra, H. K. Chopra // *AMB Express*. – 2013. – Vol. 3. – P. 1–5.
8. Дослідження росту та синтезу цільового продукту штамом *Pseudomonas* species PS-17 – продуцента позаклітинних біосурфактантів / В. А. Єрохін, Т. Я. Покинсьброда, О. В. Карпенко, В. П. Новіков // *Вісник Національного університету “Львівська політехніка”*. – 2006. – № 553. – С. 124–127.
9. Покинсьброда Т. Я., Карпенко О. В. Синтез біосурфактантів штамами *Pseudomonas* на відходах виробництва біодизелю // *Матеріали міжнародної науково-практичної інтернет-конференції “Біотехнологія: досвід, традиції та інновації”*. – 14–15 грудня 2016 р.
10. Абрамзон А. А. Поверхностно-активные вещества. Синтез, анализ, свойства, применение / А. А. Абрамзон, Л. П. Зайченко, С. И. Файнгольд // – Л.: Химия, 1988. – 200 с.
11. Кучер Р. В. Емульгування вуглеводнів – нова властивість культури дріжджів *Phaffia rhodozyma*. / Р. В. Кучер, О. Ю. Лесик, О. В. Карпенко // *Доп. АН УРСР. Сер. Б. Геол., хім. та біол. науки*. – 1990 – № 8 – С. 49–53.
12. Ando S. Chromatography lipid, biomedical research and chemical diagnostic / Susumu Ando, Megumi Saito // *Amsterdam: Elsevier*. – 1987. – P. 266–310.
13. Слободян З. Екстракти дубової кори – “зелені” інгібітори корозії середньовуглецевих сталей у нейтральних та кислих середовищах / З. Слободян, Я. Хабурський, Ю. Горак // *Вісник ТНТУ*. – 2012. – Т. 68. – С. 73–80.
14. The importance of rhamnolipid-biosurfactant induced changes in bacterial membrane lipids of *Bacillus subtilis* for the antimicrobial activity of thiosulfonates / A. Sotirova, T. Avramova, S. Stoitsova, I. Lazarkevich, V. Lubenets, E. Karpenko, D. Galabova // *Current Microbiology*. – 2012. – Vol. 65. – P. 534–541.
15. *Методы общей бактериологии* / [под ред. Ф. Герхардта и др.]. – М.: Мир, 1983. – Т. 1. – 535 с.