

DOI: 10.15593/2224-9400/2022.2.04

Научная статья

УДК 579.66

**Л.Я. Василова, В.А. Цыплюк**Уфимский государственный нефтяной  
технический университет, Уфа, Россия**СКРИНИНГ МИКРООРГАНИЗМОВ-ПРОДУЦЕНТОВ  
БИОСУРФАКТАНТОВ**

*Интерес к микробным биосурфактантам возрастает по нескольким причинам. Во-первых, биосурфактанты считаются экологически безопасными, поскольку они относительно нетоксичны и биоразлагаемы. Во-вторых, биосурфактанты имеют уникальную структуру, которая только начинает цениться за их потенциальное применение во многих различных аспектах промышленности, от биотехнологии до очистки окружающей среды.*

*Спрос на новые специальные поверхностно-активные вещества в сельском хозяйстве, косметической, пищевой, фармацевтической и экологической промышленности неуклонно растет. Поскольку эти поверхностно-активные вещества должны быть как эффективными, так и экологически безопасными, естественно обратиться к микробному миру, чтобы удовлетворить этот спрос.*

*Термин поверхностно-активное вещество охватывает широкий спектр соединений, как синтетических, так и биологических, все из которых обладают тензиоактивными свойствами. Эти молекулы имеют амфифильную природу, имеют как гидрофильные, так и гидрофобные домены, что позволяет им существовать преимущественно на границе раздела полярных и неполярных сред.*

*Наиболее важным ограничением коммерческого использования биосурфактантов является сложность и высокая стоимость производства, что ограничивает их использование в больших масштабах. На сегодняшний день единственными коммерчески доступными биосурфактантами являются рамнолипиды и сурфактин.*

*Несмотря на текущие ограничения коммерческого производства биосурфактантов, существует большой интерес к этим материалам, поскольку они считаются «зеленой» альтернативой синтетическим поверхностно-активным веществам. Биосурфактанты считаются относительно нетоксичными и биоразлагаемыми, но, возможно, более важно то, что химическая структура биосурфактантов уникальна и демонстрирует большое структурное разнообразие, включая гликолипиды, липопептиды, жирные кислоты и нейтральные липиды, сидерофорные липиды и полимерные поверхностно-активные вещества.*

*С целью поиска перспективных продуцентов биосурфактантов был проведен скрининг микроорганизмов, выделенных из загрязненных нефтью почв, с помощью определения индекса эмульгирующей активности и нефтеокисляющей способности. Всего было проанализировано 34 штамма, 5 из которых показали высокие значения индекса эмульгирующей активности и нефтеокисляющей способности. Перспективным продуцентом биосурфактантов является штамм H2-1, дающий наиболее высокие значения по всем показателям.*

**Ключевые слова:** биосурфактанты, эмульгирующая активность, нефтеокисляющая способность, микроорганизмы, скрининг.

## L.Ya. Vasilova, V.A. Cyplyuk

Ufa State Petroleum Technological University,  
Ufa, Russian Federation

### SCREENING OF MICROORGANISMS-PRODUCERS OF BIOSURFACTANTS

*Interest in microbial biosurfactants is increasing for several reasons. First, biosurfactants are considered environmentally friendly because they are relatively non-toxic and biodegradable. Second, biosurfactants have a unique structure that is only beginning to be appreciated for their potential applications in many different aspects of industry, from biotechnology to environmental cleanup.*

*The demand for new specialty surfactants in the agriculture, cosmetics, food, pharmaceutical and environmental industries is growing steadily. Because these surfactants need to be both effective and environmentally friendly, it's natural to turn to the microbial world to meet this demand.*

*The term surfactant covers a wide range of compounds, both synthetic and biological, all of which have tensioactive properties. These molecules are amphiphilic in nature and have both hydrophilic and hydrophobic domains, which allows them to exist predominantly at the interface between polar and nonpolar media.*

*The most important limitation of the commercial use of biosurfactants is the complexity and high cost of production, which limits the development of their use on a large scale. To date, the only commercially available biosurfactants are rhamnolipids and surfactin.*

*Despite the current limitations in the commercial production of biosurfactants, there is great interest in these materials as they are considered a "green" alternative to synthetic surfactants. Biosurfactants are considered relatively non-toxic and biodegradable, but perhaps more importantly, the chemical structure of biosurfactants is unique and shows great structural diversity, including glycolipids, lipopeptides, fatty acids and neutral lipids, siderophore lipids, and polymeric surfactants.*

*In order to search for promising producers of biosurfactants, a screening of microorganisms isolated from oil-contaminated soils was carried out by determining the index of emulsifying activity and oil-oxidizing ability. A total of 34 strains were analyzed, 5 of which showed high values of the index of emulsifying activity and oil-oxidizing ability. A promising producer of biosurfactants is the H2-1 strain, which gives the highest values for all indicators.*

**Keywords:** *biosurfactants, antimicrobial activity, antiviral activity, anti-adhesive coatings, therapeutic agents.*

Биосурфактанты интригуют тем, что они производятся в виде сложных смесей до 40 конгенов, где гидрофильные головные группы довольно консервативны, а гидрофобные хвостовые группы имеют значительные вариации. Конгены компонентов в этих сложных смесях могут иметь совершенно разные свойства, и различия в поведении между классами биосурфактантов могут быть столь же различными. В отличие от обычных синтетических поверхностно-активных веществ, которые обычно имеют алкильные цепи из десяти или более уг-

леродных звеньев, многие биосурфактанты обладают удивительно короткими алкильными цепями. Такие структуры улучшают растворимость этих биосурфактантов в воде, но делают вандерваальсово притягательные взаимодействия относительно слабыми. Несмотря на это структурное свойство, биосурфактанты агрегируют в растворе, чему способствуют межмолекулярные силы, такие как водородные связи. Более того, проявляют мощную поверхностно-активную активность как на жидких, так и на твердых поверхностях. Структуры этих биосурфактантов довольно специфичны и во многих случаях бросают вызов обычной химической интуиции, которая предсказывает небольшую поверхностную активность. Несмотря на их растворимость в воде, они могут иметь значительно более низкую критическую концентрацию мицеллообразования по сравнению со структурно подобными синтетическими поверхностно-активными веществами [1–5].

Производство биосурфактанта бактериями изучалось в основном с точки зрения биотехнологического потенциала. Таким образом, организмы, продуцирующие биосурфактанты, были выделены из самых разнообразных сред, включая почву, морскую воду, морские отложения, нефтяные месторождения и даже экстремальных сред [6–8].

Поскольку производство биосурфактантов требует ценных ресурсов и энергии от производящего изолята, вполне вероятно, что их производство дает преимущество в конкуренции за ресурсы или в защите в суровых условиях окружающей среды.

Биосурфактанты имеют широкий спектр применения. Их используют при добыче, транспортировке и хранении нефти, для биоремедиации нефтезагрязненных почв, удаления гидрофобных органических загрязнителей, тяжелых металлов, в пищевой и медицинской промышленности [9–12].

Цель данной работы – провести скрининг микроорганизмов, являющихся продуцентами биосурфактантов, определить штаммы, обладающие наибольшей способностью использовать нефть в качестве источника углерода и образовывать стабильную эмульсию. В дальнейшем наиболее активные штаммы можно использовать для создания консорциума и применения такого биопрепарата в промышленности.

#### **Материалы и методы исследования.**

**Определение индекса эмульгирующей активности.** Индекс эмульгирующей активности позволяет оценить способность продуцируемых микроорганизмами биосурфактантов эмульгировать две несмешивающиеся жидкости.

Микроорганизмы выращивали на среде Эванса [13] следующего состава (мл/л):  $K_2HPO_4 \times 3H_2O - 8,71$  г/л;  $5 M NH_4NO_3 - 1$ ;  $0,1 M Na_2SO_4 - 1$ ,  $62 mM MgCl_2 - 1$ ;  $1 mM CaCl_2 - 1$ ;  $0,005 M (NH_4)_6Mo_7O_{24} \times H_2O - 1$ , микроэлементы – 1. Микроэлементы имеют следующий состав (г/л):  $ZnO - 0,41$ ,  $FeCl_2 \times 6H_2O - 5,4$ ,  $MnCl_2 \times 4H_2O - 2$ ,  $CuCl_2 \times 2H_2O - 0,17$ ,  $CoCl_2 \times 6H_2O - 0,48$ ,  $H_3BO_3 - 0,06$ . Источником углерода служила глюкоза в концентрации 1 % (мас.).

Готовили 1 л питательной среды, разливали ее по колбам на 100 мл и стерилизовали в автоклаве в течение 30 мин при температуре  $120^\circ C$  под давлением  $1,1 \text{ кгс/см}^2$ . Выращенные на агаровых косяках анализируемые культуры переседали на жидкую питательную среду в стерильных условиях в микробиологическом боксе и культивировали в шейкере 3 сут при температуре  $30^\circ C$  и числе оборотов 170 об/мин (рис. 1).

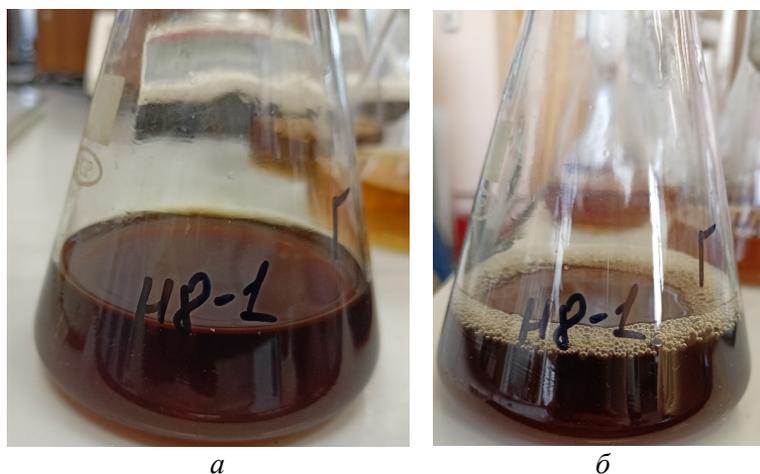


Рис. 1. Культура Н8-1 до культивирования в шейкере (а) и после него (б)

По истечении 3 сут полученную биомассу отправляли на центрифугу и центрифугировали при 8000 об/мин в течение 15 мин [14].

Для определения индекса эмульгирующей активности в качестве гидрофобного субстрата использовали гексадекан, к которому добавляли 1 мл супернатанта в соотношении 1:1 [15]. Смесь интенсивно встряхивали на вортексе в течение 5 мин, а затем оставляли на 24 ч [16]. Через 24 ч измеряли высоту стабильного слоя эмульсии. Индекс эмульгирующей активности вычислялся по формуле

$$E_{24} = \frac{h_{с.э}}{h_{ж}} \cdot 100 \%, \quad (1)$$

где  $E_{24}$  – индекс эмульгирующей активности;  $h_{c,9}$  – высота слоя эмульсии;  $h_{ж}$  – общая высота жидкости.

На рис. 2 показаны стабильные эмульсии, образованные культурами Н10-2, Н9-2 и Н5-1.

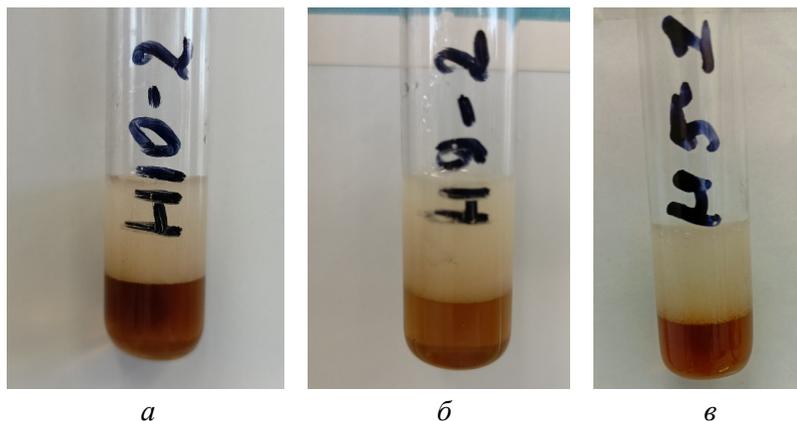


Рис. 2. Стабильные эмульсии, образованные культурами Н10-2 (а), Н9-2 (б) и Н5-1 (в)

После этого определяли количество включенного в эмульсию гексадекана с помощью пипетки Пастера.

Результаты измерения индекса эмульгирующей активности и определения объема включенного гексадекана представлены в табл. 1 (приведены штаммы с наиболее высокими значениями индекса эмульгирующей активности).

Согласно табл. 1, наиболее стабильные эмульсии образуют штаммы Н2-1, Н5-1, Н6-2, Н9-2, Н10-2 и Н11-1.

**Определение нефтеокисляющей способности.** Нефтеокисляющая способность микроорганизмов позволяет определить их метаболическую активность и выявить наиболее способные к утилизации загрязнения нефтепродуктами штаммы.

Микроорганизмы выращивали на среде Эванса, такого же состава, какой использовали при определении индекса эмульгирующей активности. В качестве источника углерода использовалась 1 % (об.) сырая нефть [16].

Минеральный фон разливали в колбы по 25 мл и стерилизовали в автоклаве. Выращенные на агаровых косяках анализируемые культуры пересеивали на жидкую питательную среду в стерильных условиях в микробиологическом боксе, добавляли 1 % нефти и культивировали в шейкере 10 сут при температуре 24 °С и числе оборотов 128 об/мин (рис. 3).

Таблица 1

Измерение индекса эмульгирующей активности и объема,  
включенного в эмульсию гексадекана

Штамм	Высота слоя эмульсии $h_{эм}$ , мм	Общая высота жидкости $h_{общ}$ , мм	$E_{24}$ , %	* $V_{ост}^{гекс}$ , мл	** $V_{вкл}^{гекс}$ , мл	Примечание
H2-1	12	22	54,5	0	100	Помутнение среды
H5-1	12	21	57,1	0,9	0,1	Помутнение среды, пенообразование
H6-2	3	22	13,64	0,85	0,15	Культура после расчистки образует нестабильную эмульсию
H9-2	15	24	62,5	0,06	0,94	Помутнение среды, пенообразование. На поверхности среды образуются био пленки
H10-2	10	18	55,56	0	1	Помутнение среды и пенообразование. На поверхности среды образуются био пленки

\* Объем оставшегося (невключенного в эмульсию) гексадекана.

\*\* Объем включенного в эмульсию гексадекана.



Рис. 3. Результат процесса окисления нефти  
на примере культур H2-1 и H10-1-2

По истечении 10 сут отделяли нефть от биомассы методом двойной экстракции в делительной воронке. В качестве растворителя использовали четыреххлористый углерод. Растворитель добавляли к

биомассе с нефтью в соотношении 1:1. Экстрагированную нефть сливали в фарфоровые чашки, предварительно высушенные в сушильном шкафу до постоянной массы и взвешенные. Чашки с нефтью и растворителем оставляли на 2 сут до полного испарения растворителя, а затем взвешивали (рис. 4) [17].

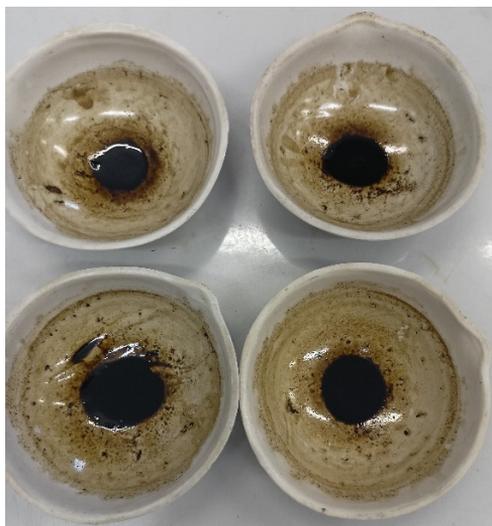


Рис. 4. Чашки с нефтью после испарения растворителя

Объем окисленной нефти определяли по формуле

$$\text{ОН} = \left( 1 - \frac{V_{\text{н}}^{\text{ост}}}{V_{\text{н}}^{\text{перв}}} \right) \cdot 100 \%, \quad (2)$$

где  $V_{\text{н}}^{\text{ост}}$  – объем нефти, оставшейся в фарфоровой чашке, мл;  $V_{\text{н}}^{\text{перв}}$  – первоначальный объем нефти, мл.

Объем нефти, оставшейся в фарфоровой чашке, находим по формуле

$$V_{\text{н}}^{\text{ост}} = m_{\text{ф.ч+н}} - m_{\text{ф.ч}}, \quad (3)$$

где  $m_{\text{ф.ч+н}}$  – масса фарфоровой чашки с нефтью, г;  $m_{\text{ф.ч}}$  – масса фарфоровой чашки без нефти.

Результаты определения нефтеокисляющей способности представлены в табл. 2 (приведены только штаммы с высокой способностью к нефтеокислению).

Согласно табл. 2, высокий процент окисления нефти (более 50 %) был достигнут теми же штаммами, у которых высокий показатель индекса эмульгирующей активности.

Результаты определения нефтеокисляющей  
способности микроорганизмов

Штамм	$m_{ф.ч.}$ , Г	$V_{н}^{перв}$ , мл	$m_{ф.ч+н}$ , Г	$V_{н}^{ост}$ , мл	Окисленная нефть, %	Примечание
H2-1	69,904	0,25	69,947	0,043	82,8	Светло-коричневый цвет среды
H5-1	84,14	0,25	84,180	0,11	56	Светло-коричневый цвет среды, на поверхности – крупные нефтяные хлопья
H6-2	84,14	0,25	84,229	0,089	64,4	Светло-коричневый цвет среды через 4 дня
H9-2	79,082	0,25	79,201	0,119	52,4	
H10-2	84,14	0,25	84,243	0,103	58,8	

**Заключение.** Было проанализировано 34 культуры микроорганизмов и проведен их скрининг. При определении эмульгирующей активности стабильная эмульсия образовывалась штаммами H2-1, H5-1, H6-2, H9-2 и H10-2. Эти же штаммы показали высокий процент окисления нефти (более 50 %). Самым перспективным продуцентом биосурфактантов является штамм H2-1 с индексом эмульгирующей активности 54,5 %, который окислил 82,8 % нефти за 10 сут. Данный штамм можно использовать при составлении консорциума и производства биопрепарата для биоремедиации нефтезагрязненных почв.

### Список литературы

1. Banat I.M., Makkar R.S., Cameotra S.S. Potential commercial applications of microbial surfactants // *Appl Microbiol Biotechnol.* – 2000. – № 53. – P. 495–508.
2. Microbial biosurfactants production, applications and future potential / I. M. Banat [et al.] // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2010. – № 87. – P. 427–444.
3. Review. Biosurfactants: Multifunctional Biomolecules of the 21st Century / D.K. Santos, R.D. Rufino [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences.* – 2016. – № 401 (17). – 31 p.
4. Varjani S.J., Upasani V.N. Critical Review on Biosurfactant Analysis, Purification and Characterization Using Rhamnolipid as A Model Biosurfactant // *Bioresource Technology.* – № 233. – 2017. – P. 389–397.
5. Biosurfactants: potential applications in medicine / L. Rodrigues [et al.] // *J. Antimicrob Chemother.* – 2006. – Vol. 57 (4). – P. 609–618.
6. Potential applications of surface-active compounds by *Gordonia* sp. strain BS29 in soil remediation technologies / A. Franzetti [et al.] // *Chemosphere.* – 2009. – Vol. 75 (6). – P. 801–807.

7. Nayariseri A., Singh P., Singh S.K. Screening, isolation and characterization of biosurfactant producing *Bacillus subtilis* strain ANSKLAB03 // Bioinformation. – 2018. – Vol. 14, № 6. – P. 304–314.
8. Production and stability studies of the biosurfactant isolated from marine *Nocardioopsis sp.* B4 / A. Khopade, R. Biao, X. Liu, K. Mahadik, L. Zhang, C. Kokare // Desalination. – 2012. – Vol. 285. – P. 198–204.
9. Optimization of bench-scale production of biosurfactant by *Bacillus Licheniformis* R2 / S.J. Joshi, S.J. Geetha, S. Yadav, A.J. Desai // APCBEE Proc. – 2013. – Vol. 5. – P. 232–236.
10. Control of agitation and aeration rates in the production of surfactin in foam overflowing fed-batch culture with industrial fermentation / S. Yao, S. Zhao, Z. Lu, Y. Gao, F. Lv, X. Bie // Rev. Argent. Microbiol. – 2015. – Vol. 47, № 4. – P. 344–349.
11. Fakruddin M. Biosurfactant: production and application // J. Pet. Environ. Biotechnol. – 2012. – Vol. 3. – P. 124.
12. Isolation and production of biosurfactant from *Pseudomonas aeruginosa* isolated from Iranian southern wells oil / H. Rashedi, E. Jamshidi, M.A. Mazaheri, B. Bonakdarpour // Int. J. Environ. Sci. Tech. – 2016. – Vol. 2, № 2. – P. 121–127.
13. Evans C., Herbert D., Tempest D. The continuous cultivation of microorganisms. 2. Construction of hemostat // Methods in Microbiology. – 1970. – Vol. 2, № 4. – P. 277–327.
14. Методы скрининга биосурфактант-продуцирующих бактерий (мини-обзор) / Т.М. Лыонг [и др.] // Изв. ТулГУ. Естественные науки. – 2019. – Вып. 4. – С. 98–111.
15. Cooper D.G., Goldenberg G.G. Surface-active agents from two *Bacillus* species // Appl. Environ. Microbiol. – 1987. – Vol. 53. – P. 224–229.
16. Биодegradация нефтепродуктов штаммами-деструкторами и их ассоциациями в жидкой среде / Л.М. Барышникова [и др.] // Прикл. биохимия и микробиология. – 2001. – Т. 37, № 5. – С. 542–548.
17. Деструкция нефти бактериями рода *Pseudomonas*, содержащими различные плазмиды биодegradации / А.А. Ветрова, А.А. Овчинникова, А.Е. Филонов [и др.] // Изв. ТулГУ. Естественные науки. – 2008. – № 2. – С. 186–193.

## References

1. Banat I.M. Potential commercial applications of microbial surfactants / I.M. Banat, R.S. Makkar, S.S. Cameotra // Appl Microbiol Biotechnol. no. 53. 2000. pp. 495–508.
2. Banat, I. M. Microbial biosurfactants production, applications and future potential / I.M. Banat and others // Appl. Microbiol. Biotechnol. no. 87. 2010. pp. 427–444.
3. Santos, D. K. Review. Biosurfactants: Multifunctional Biomolecules of the 21st Century / D. K. Santos, R. D. Rufino and others // International Journal of Molecular Sciences. no. 401 (17). 2016. 31 p.

4. Varjani, S. J. Critical Review on Biosurfactant Analysis, Purification and Characterization Using Rhamnolipid as A Model Biosurfactant / S. J. Varjani, V. N. Upasani // *Bioresource Technology*. – № 233. - 2017. – P. 389-397.

5. Rodrigues, L. Biosurfactants: potential applications in medicine / L. Rodrigues and others // *J Antimicrob Chemother*. V. 57 (4). 2006. pp. 609 – 618.

6. Franzetti, A. Potential applications of surface-active compounds by *Gordonia* sp. strain BS29 in soil remediation technologies / A. Franzetti and others // *Chemosphere*. V.75 (6). 2009. pp. 801 – 807.

7. Nayarisseri, A. Screening, isolation and characterization of biosurfactant producing *Bacillus subtilis* strain ANSKLAB03 / A. Nayarisseri, P. Singh, S.K. Singh // *Bioinformation*. Vol. 14. no. 6. 2018. P. 304–314.

8. Khopade, A. Production and stability studies of the biosurfactant isolated from marine *Nocardiopsis* sp. B4 / A. Khopade, R. Biao, X. Liu, K. Mahadik, L. Zhang, C. Kokare // *Desalination*. Vol. 285. 2012. pp. 198–204.

9. Joshi, S.J. Optimization of bench-scale production of biosurfactant by *Bacillus Licheniformis* R2 / S.J. Joshi, S.J. Geetha, S. Yadav, A.J. Desai // *APCBEE Proc*. Vol. 5. 2013. pp. 232–236.

10. Yao, S. Control of agitation and aeration rates in the production of surfactin in foam overflowing fed-batch culture with industrial fermentation / S. Yao, S. Zhao, Z. Lu, Y. Gao, F. Lv, X. Bie // *Rev. Argent. Microbiol*. Vol. 47. no. 4. 2015. pp. 344–349.

11. Fakruddin, M. Biosurfactant: production and application // *J. Pet. Environ. Biotechnol*. Vol. 3. 2012. P. 124.

12. Rashedi, H. Isolation and production of biosurfactant from *Pseudomonas aeruginosa* isolated from Iranian southern wells oil / H. Rashedi, E. Jamshidi, M.A. Mazaheri, B. Bonakdarpour // *Int. J. Environ. Sci. Tech*. Vol. 2. - № 2. – 2016. - P. 121–127.

13. Evans C. The continuous cultivation of microorganisms. 2. Construction of hemostat / C. Evans, D. Herbert, D. Tempest // *Methods in Microbiology*. Vol. 2. No. 4. 1970. P. 277-327.

14. Ly`ong, T. M. Metody` skringa biosurfaktant-produciruyushhix bakterij (mini-obzor) / T. M. Ly`ong i dr. // *Izvestiya TulGU. Estestvenny`e nauki*. Vol. 4. 2019. pp. 98 – 111.

15. Cooper. D.G. Surface-active agents from two *Bacillus* species / D.G. Cooper, G.G. Goldenberg // *Appl. Environ. Microbiol*. Vol. 53. 1987. pp. 224-229.

16. Bary`shnikova, L.M. Biodegradaciya nefteproduktov shtammami-destruktorami i ix asociacijami v zhidkoj srede / L.M. Bary`shnikova i dr. // *Prikl. bioximiya i mikrobiologiya*. T.37. no.5. 2001. pp. 542-548.

17. Vetrova, A.A. Destrukciya nefi bakteriyami roda *Pseudomonas*, sodержashhimi razlichny`e plazmidy` biodegradacii / A.A. Vetrova, A.A. Ovchinikova, A.E. Filonov i dr. // *Izvestiya Tul'skogo gosudarstvennogo universiteta. Estestvenny`e nauki*. No. 2. 2008. pp. 186-193.

## Об авторах

**Василова Лилия Ягфарьевна** (Уфа, Россия) – кандидат технических наук, доцент кафедры «Биохимия и технология микробиологических производств» Уфимского государственного нефтяного технического университета (450064, г. Уфа, ул. Космонавтов, 1).

**Цыплюк Виктория Александровна** (Уфа, Россия) – магистрант кафедры «Биохимия и технология микробиологических производств» Уфимского государственного нефтяного технического университета (450064, г. Уфа, ул. Космонавтов, 1; e-mail: vcypluk@mail.ru).

## About the authors

**Liliya Ya. Vasilova** (Ufa, Russian Federation) – Associate Professor, Candidate of Technical Sciences of the Department of Biochemistry and Technology of Microbiological Production, Ufa State Petroleum Technological University (1, Kosmonavtov str., Ufa, 450064).

**Viktoriya A. Cyplyuk** (Ufa, Russian Federation) – Undergraduate Student of the Department of Biochemistry and Technology of Microbiological Production, Ufa State Petroleum Technological University (1, Kosmonavtov str., Ufa, 450064; e-mail: vcypluk@mail.ru).

Поступила: 07.07.2022

Одобрена: 08.08.2022

Принята к публикации: 20.09.2022

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Вклад авторов** равноценен.

Просьба ссылаться на эту статью в русскоязычных источниках следующим образом:

Василова, Л.Я. Скрининг микроорганизмов-продуцентов биосурфактантов / Л.Я. Василова, В.А. Цыплюк // Вестник ПНИПУ. Химическая технология и биотехнология. – 2022. – № 3. – С. 47–57.

Please cite this article in English as:

Vasilova L.Ya., Cyplyuk V.A. Screening of microorganisms - producers of biosurfactants. *Bulletin of PNRPU. Chemical Technology and Biotechnology*, 2022, no. 3, pp. 47-57 (In Russ).