

Biosurfactant Production by *Aeromonas caviae***Abdul Wakil AYAN¹, Sümeyra GÜRKÖK²**¹ Department of Biology, Natural and Applied Science, Ataturk University, Erzurum, Türkiye² Department of Biology, Faculty of Science, Ataturk University, Erzurum, Türkiye

Corresponding author: sumeyrag@gmail.com

Abstract

Surfactants are amphiphilic compounds known as surface-active agents. Due to this property, they accumulate at the interfaces of different phases and reduce the surface tension between these phases, facilitating their mixing and the formation of emulsions. Consequently, surfactants have widespread applications in detergents and cleaning products, the food industry, cosmetics and personal care products, the oil and gas industry, as well as in medicine and pharmaceuticals. However, these synthetic surfactants, which are chemically synthesized, have certain adverse effects on both the environment and human health. Therefore, biosurfactants, which are naturally synthesized by bacteria, fungi, and other microorganisms, have gained significant importance as alternatives to synthetic surfactants. Eco-friendly biosurfactants offer several advantages, including low toxicity, biodegradability, high biocompatibility, sustainable production, and stability under various conditions. Additionally, their diversity makes them a promising group of compounds for a wide range of industrial and biotechnological applications. This study aims to investigate the biosurfactant production potential of the *Aeromonas caviae* LipT51 strain. Biosurfactants are increasingly attracting interest in biotechnology due to their advantages, such as low toxicity, biodegradability, and environmental compatibility. In this study, *A. caviae* LipT51 was cultured in a medium containing olive oil to induce biosurfactant production. The presence of biosurfactant production was confirmed through various tests, including the Parafilm M test, oil spreading test, emulsification index (E24) measurement, CTAB agar method, hemolytic activity test, foam formation test, and phenol-sulfuric acid method. The results demonstrated that the produced biosurfactant exhibited surface-active properties, possessed emulsification capacity, and showed potential for biotechnological applications, including hydrocarbon bioremediation and antimicrobial activity.

Key Words: Biosurfactant, *Aeromonas caviae*, surface active agents, biotechnology***Aeromonas caviae* ile Biyosüpfaktan Üretimi****Özet**

Süpfaktanlar, yüzey aktif maddeler olarak bilinen amfifilik bileşiklerdir. Bu özellikleriyle farklı fazlar arasındaki yüzeylerde birikir ve bu fazlar arasındaki yüzey gerilimini azaltarak bunların daha kolay karışmasını ve emülsiyon oluşumunu sağlar. Bu sayede süpfaktanlar deterjan ve temizlik ürünleri, gıda endüstrisi, kozmetik ve kişisel bakım ürünleri, petrol ve gaz endüstrisi, tıp ve ilaç endüstrisinde geniş kullanım alanlarına sahiptir. Ancak, kimyasal olarak sentezlenen bu sentetik süpfaktanlar çevresel ve sağlık açısından bazı olumsuz etkilere sahiptirler. Bu yüzden, süpfaktanlara alternatif olarak genellikle bakteriler, mantarlar ve diğer mikroorganizmalar tarafından doğal olarak sentezlenen biyosüpfaktanlar büyük önem kazanmıştır. Çevre dostu biyosüpfaktanlar düşük toksisite, biyolojik olarak parçalanabilirlik, yüksek biyouyumluluk, sürdürülebilir üretim, farklı koşullarda kararlılık gibi avantajlara sahiptir. Ayrıca, biyosüpfaktanların çeşitliliği, onları geniş bir endüstriyel ve biyoteknolojik uygulamaya yelpazesinde potansiyel olarak kullanılabilir bir bileşik grubu haline getirir. Bu çalışma ise *Aeromonas caviae* LipT51 suşunun biyosüpfaktan üretim potansiyelini araştırmayı amaçlamaktadır. Biyosüpfaktanlar, düşük toksisite, biyobozunurluk ve çevresel uyumluluk gibi avantajları nedeniyle biyoteknolojide giderek daha fazla ilgi görmektedir. *A. caviae* LipT51 zeytinyağı içeren besi ortamında kültüre edilerek biyosüpfaktan üretimi gerçekleştirilmiştir. Parafilm M testi, yağ yayma testi, E24 emülsifikasyon indeksi ölçümü, CTAB agar yöntemi hemolitik aktivite testi, köpüklenme testi ve fenol sülfirik asit yöntemi ile biyosüpfaktan üretimi doğrulanmıştır. Yapılan testler sonucunda, üretilen biyosüpfaktanın yüzey aktif özellikler gösterdiği, emülsifikasyon kapasitesine sahip olduğu ve hidrokarbon biyoremediasyonu, antimikrobiyal etkisi ile biyoteknolojik uygulamalar için potansiyel taşıdığı belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Biyosüpfaktan, *Aeromonas caviae*, yüzey aktif bileşikler, biyoteknoloji

Giriş

Sümfaktanlar, yüzey aktif maddeler olarak bilinen bileşiklerdir ve hem hidrofilik (suyu seven) hem de hidrofobik (sudan kaçınan) bileşenlere sahip olmaları sayesinde farklı fazlar arasında yüzey gerilimini azaltma özelliği gösterirler. Moleküler yapılarındaki hidrofilik baş kısmı genellikle şeker, amino asit, fosfat, karboksilik asit veya alkol gibi polar fonksiyonel gruplardan oluşurken, hidrofobik kuyruk kısmı ise genellikle β -hidroksi yağ asitlerinin hidrokarbon zincirlerini içerir (Banat et al., 2010).

Amfifilik özellikleri nedeniyle sümfaktanlar, sıvı/katı, sıvı/gaz ve sıvı/sıvı (yağ/su) gibi farklı fazlar arasındaki yüzeylerde birikir ve bu fazlar arasındaki yüzey gerilimini azaltarak bunların daha kolay karışmasını ve etkileşime girmesini sağlar. Bu yüzey aktif özellikleri, onları evsel kullanımlarından endüstriyel süreçlere ve tarımsal uygulamalara kadar geniş bir kullanım alanına sahip çok yönlü kimyasal bileşikler haline getirmektedir (Pierre et al., 2025).

Kimyasal olarak sentezlenen sümfaktanlara alternatif olan biyosümfaktanlar da büyük önem taşır. Biyosümfaktanlar, bakteriler, mantarlar ve diğer mikroorganizmalar tarafından doğal olarak sentezlenen yüzey aktif biyomoleküllerdir ve düşük toksisite, biyolojik olarak parçalanabilirlik, çevresel uyumluluk gibi avantajlara sahiptir. Ayrıca, yüksek köpürme kapasitesi, seçicilik ve sıcaklık, pH ve tuzluluk gibi çevresel faktörlere karşı direnç gibi özellikleri ile endüstriyel ve çevresel uygulamalarda büyük bir potansiyel taşımaktadırlar (Adetunji, 2022; Kumar and Dubey, 2023; Kugaji et al., 2025).

Biyosümfaktanlar kimyasal sümfaktanlara kıyasla çevre dostu ve biyolojik olarak parçalanabilir olduklarından, özellikle son yıllarda sürdürülebilir alternatifler olarak büyük ilgi görmektedir. Su-yağ ara yüzeylerinde emülsiyonlar oluşturabilme, köpük stabilizasyonu, biyofilm inhibisyonu ve kirleticilerin uzaklaştırılması gibi özellikleri sayesinde çevresel, tıbbi ve endüstriyel birçok alanda yaygın şekilde kullanılmaktadırlar. Glikolipidler, lipopeptitler, fosfolipidler, yağ asitleri, lipidler, polimerik sümfaktanlar ve partikül sümfaktanlar gibi çeşitli alt gruplara ayrılan biyosümfaktanlar, sahip oldukları geniş substrat erişilebilirliği sayesinde ticari uygulamalarda önemli bir potansiyel sunmaktadır (Jahan et al., 2020).

Biyosümfaktanların sunduğu geniş fonksiyonel çeşitlilik, onları farklı endüstrilerde uygulama alanı bulabilen değerli bileşikler haline getirmektedir. Tarım, çevre, tıp, gıda ve petrol sanayisi gibi birçok sektörde kullanılan biyosümfaktanlar, antiviral, antifungal ve antibakteriyel etkileri nedeniyle sağlık ve kozmetik ürünlerinde de değerlendirilmektedir (Gürkök and Özda, 2021; Özda et al., 2023; Kugaji et al., 2025).

Yağ-su emülsiyonlarının stabilitesini artırarak biyosümfaktanlar gıda ürünlerinin raf ömrünü uzatmada, margarin, dondurma, mayonez gibi emülsifiye gıdalarda kullanılabilir. Gıda patojenlerine karşı antimikrobiyal ve antibiyofilik özellikler göstererek doğal koruyucu ajan olarak işlev görebilir ve gıda güvenliğini artırır. Bu özellikleriyle ayrıca tarımda bitki hastalıklarına neden olan bazı mantar ve bakterilere karşı zararlı karşı biyolojik mücadelede kullanılabilirler. Emülsifiye edici özellikleriyle topraktaki besin maddelerinin biyoyararlanımını artırarak bitki büyümesini teşvik edebilir ve pestisit ve ağır metal gibi kirleticilerin topraktan uzaklaştırılmasına yardımcı olabilirler (Adetunji, 2022; Sharma et al., 2025).

Aeromonas caviae LipT51 suşu bir kaplıcadan izole edilmiş olup, yüksek sıcaklık ve alkali koşullara dayanıklı bir lipaz enzimi ürettiği bildirilmiştir. Bu çalışmada ise *A. caviae* LipT51'in zeytinyağı içeren besi ortamında biyosümfaktan üretiminin araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Yöntem

Bakteri Kültürü ve Besiyeri Koşulları

Aeromonas caviae LipT51 (GenBank ID: MN818567.1) daha önce tamamlanmış bir proje kapsamında Erzurum İli'ndeki bir kaplıcadan izole edilmiştir. *A. caviae* LipT51 suşu, nutrient agar besiyerine ekilerek 30 °C'de inkübe edilerek çoğaltılmıştır. Ön kültür, Nutrient Broth (NB) ortamında bir gece inkübe edilerek hazırlanmıştır. Biyosümfaktan üretimi için %1 zeytinyağı içeren NB besiyeri kullanılmış ve kültürler 30 °C'de, 180 rpm'de çalkalamalı inkübasyona tabi tutulmuştur. Ayrıca, %0,5, 1, 2 ve 5 konsantrasyonlarında zeytinyağı içeren besi ortamlarında geliştirilerek *A. caviae* LipT51'in biyosümfaktan üretimi üzerine yağ miktarının etkisi incelenmiştir.

Biyosümfaktan Üretimi ve Hasat

Kültürler dört gün boyunca inkübe edildikten sonra, biyosümfaktan analizleri başlatılmıştır. Biyosümfaktan varlığının tespiti için bakteri kültürleri 10.000 rpm'de 20 dakika santrifüj edilmiş ve analizlerde hücresiz kültür süpernatantı kullanılmıştır.



Biyosüpfaktan Varlığının Analizi

Üretilen biyosüpfaktanın yüzey aktif özelliklerini değerlendirmek için çeşitli testler uygulanmıştır. Bu analizlerde pozitif kontrol (+) olarak %1'lik SDS ve negatif kontrol (+) olarak distile su kullanılmıştır.

Parafilm M Testi

Biyosüpfaktan varlığını değerlendirmek için kullanılan parafilm M testinde kültür süpernatantından 25 µL alınarak parafilm yüzeyine damlatılarak yayılma özellikleri gözlemlenmiştir ve kontrol numuneleri ile karşılaştırılmıştır. Pozitif kontrol olarak %1'lik SDS ve negatif kontrol olarak distile su kullanılmıştır (Gurkok and Ozdal, 2023).

Emülsifikasyon İndeksi (E24)

Yağ-su arayüzünde emülsiyon oluşturma kapasitesini belirlemek için %1 zeytinyağında kültüre edilen *A. caviae* süpernatantı kullanılmış ve emülsiyon stabilitesi ölçülmüştür. Bir tüp içerisine 2 mL süpernatant ve 2 mL zeytinyağı konularak ve vorteksle 2 dakika boyunca iyice karıştırılmıştır. Ardından 24 saat dinlendirilmiştir. Süre sonunda E24 ölçümleri aşağıdaki denkleme göre hesaplanmıştır (Cooper and Goldenberg, 1987; Gurkok, 2022).

$$E24 (\%) = (\text{Emülsiyon tabakasının yüksekliği} / \text{Toplam yükseklik}) \times 100$$

Yağ yer değiştirme Testi

Biyosüpfaktanın yağ yer değiştirme testi 9 cm çapa sahip petri kaplarında gerçekleştirilmiştir. 20 mL distile su petri kaplarına konuşmuş ve üzerine 500 µL zeytinyağı eklenerek bir tabaka oluşturulmuştur. Yağ tabakasının ortasına 15 µL kültür süpernatantı aktarılmıştır. Yağ tabakasının üzerinde oluşan zon çapı cetvelle ölçülmüştür (Morikawa et al., 2000). Zon çapı 0.5-0.9 cm ise '+', 1-1.5 cm ise '++', 1.5-2.1 cm aralığında ise '+++', 2.1 cm'den büyük ise '++++' olarak değerlendirilmiştir.

Hemolitik Aktivite Testi

A. caviae bakterisi kanlı agar (%5 koyun kanı içeren) petrilere ekildi ve 37 °C'de 2-3 gün boyunca inkübe edildi. Sürenin sonunda kan hücrelerinin hemolizine bağlı olarak kolonilerin etrafında zon oluşumu izlendi (Mulligan et al. 1984; Gurkok, 2022).

Köpüklenme Testi

Biyosüpfaktanın köpük oluşturma kapasitesini ölçmek için 5 mL kültür süpernatantı 2 dakika boyunca kuvvetli bir şekilde çalkalandı ve köpüklenme aşağıdaki denkleme göre hesaplandı (El-Sheshtawy & Doheim, 2014).

$$\text{Köpüklenme (\%)} = \text{Köpük yüksekliği} / \text{Toplam yükseklik} \times 100$$

Fenol-Sülfirik Asit Yöntemi

Karbonhidrat bazlı biyosüpfaktan varlığını belirlemek amacıyla gerçekleştirilmiştir. *A. caviae* LipT51 kültür süpernatantından 400 µL alınarak, 200 µL fenol ve 1000 µL H₂SO₄ ile karıştırılmıştır. Karışım soğutulduktan sonra spektrofotometrede 480 nm'de optik yoğunlukları (OD) ölçülmüştür. Karbonhidrat miktarı 0-150 mg/L konsantrasyon aralığında hazırlanan ramnoz standart eğrisi kullanılarak hesaplanmıştır (Ozdal et al., 2017).

Atık Ayçiçek yağı ile Biyosüpfaktan Üretimi

Hem daha ekonomik biyosüpfaktan üretimi elde etmek hem de atık maddelerin değerlendirilmesi amacıyla farklı miktarlarda (%0,5, 1, 2, ve 5) atık ayçiçek yağı içeren kültürlerdeki biyosüpfaktan üretimleri araştırılmıştır. Fenol sülfirik asit yöntemiyle miktar tayini gerçekleştirilmiştir.

Bulgular ve Tartışma***A. caviae* LipT51 ile biyosüpfaktan üretimi**

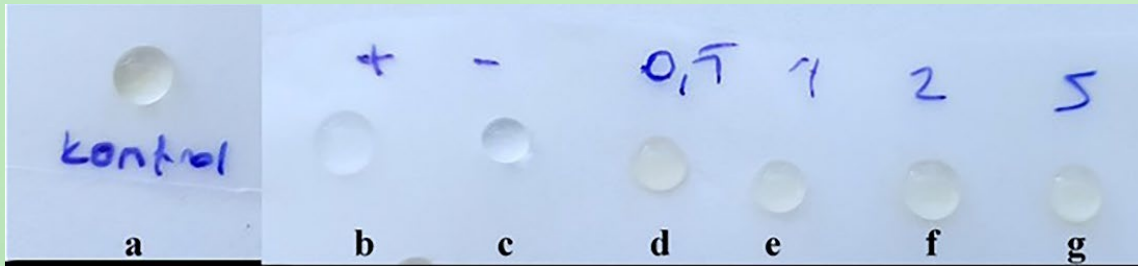
A. caviae LipT51'in %1 zeytinyağı içeren NB besiyerinde inkübasyonu sonucunda Şekil 1'de görüldüğü gibi kültür yüzeyinde bazı metabolik ürünlerin biriktiği, santrifüj edildiğinde kolaylıkla çökmediği ve SDS gibi kimyasal süpfaktantlara benzer yüzey aktivitesi gösterdiği görülmüştür.





Şekil 1. %1 zeytinyağı içeren NB besiyerinde gelişen *A. caviae* Lip51 kültür yüzeyinde gözlemlenen yüzey aktif madde

A. caviae LipT51 ile biyosüpfaktan üretimi öncelikle parafilm-M testi kullanılarak incelenmiştir. Şekil 2'de görüldüğü gibi, %0,5, 1, 2 ve 5 oranlarındaki zeytinyağı besiyerlerinde büyütülen *A. caviae* LipT51 kültüründen elde edilen süpernatantların parafilm yüzeyinde yayılma gösterdiği tespit edilmiştir. Buna karşın, negatif kontrol grubunda ve yağ içermeyen (%0) kontrol kültüründe herhangi bir yayılma gözlenmemiştir.



Şekil 2. Parafilm M testi. Kontrol besiyeri (a), pozitif kontrol SDS (b), negatif kontrol H₂O (c) ile %0,5 (d), %1 (e), %2 (f), ve %5 (g) zeytinyağı içeren besiyerinde gelişen *A. caviae* LipT51 süpernatantı

A. caviae LipT51 süpernatantı kullanılarak gerçekleştirilen yağ yayma testi sonucunda Şekil 3'de gösterildiği üzere, kültür süpernatantı hem petri yüzeyine yerleştirilen zeytinyağı hem de motor yağı üzerinde yayılma sağlamıştır. Buna ek olarak, farklı yağ konsantrasyonlarının etkisini değerlendirmek amacıyla %0,5, 1, 2 ve 5 zeytinyağı içeren besiyerlerinde geliştirilen *A. caviae* LipT51 kültürüne ait süpernatantlarla yağ yayma testi gerçekleştirilmiştir. Test sonucunda, biyosüpfaktan varlığına bağlı olarak oluşan şeffaf zon çapları ölçülerek Tablo 6'da sunulmuştur. Kontrol grubunda herhangi bir yağ yayılması gözlemlenmezken, en yüksek yağ yayma aktivitesi %2 ve %5 oranında zeytinyağı içeren ortamlarda tespit edilmiştir.

Tablo 1. Farklı zeytinyağı içeren besiyerlerinde gelişen *A. caviae* LipT51 kültür süpernatantlarının yağ yayma aktivitesinin ve zon çaplarının belirlenmesi

Numune	Zon Çapı (cm)	Yağ Yayma Aktivitesi
Kontrol	0	-
%0.5 Zeytinyağı	1.2	++
%1 Zeytinyağı	1.7	+++
%2 Zeytinyağı	2.3	++++
%5 Zeytinyağı	2.8	++++

Kanlı agar petrisi üzerinde gelişen *A. caviae* LipT51'in kolonileri etrafında oluşturduğu şeffaf zon Şekil 3'de gösterilmiştir. *A. caviae* LipT51'in hemolitik aktiviteye sahip olması eritrositlerin hemolizine neden olan biyosüpfaktan maddenin üretiminin bir göstergesi olarak değerlendirilmiştir.

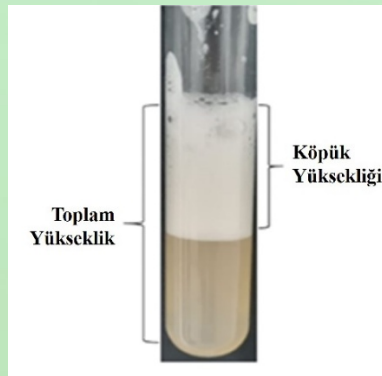
Şekil 3'de kanlı agar petrisinde gelişen *A. caviae* LipT51 kolonilerinin çevresinde oluşan şeffaf zon gösterilmiştir. Bu şeffaf alan, bakterinin hemolitik aktiviteye sahip olduğunu ve eritrositlerin hemolizine neden olan biyosüpfaktan üretiminin bir göstergesi olarak değerlendirilmektedir.





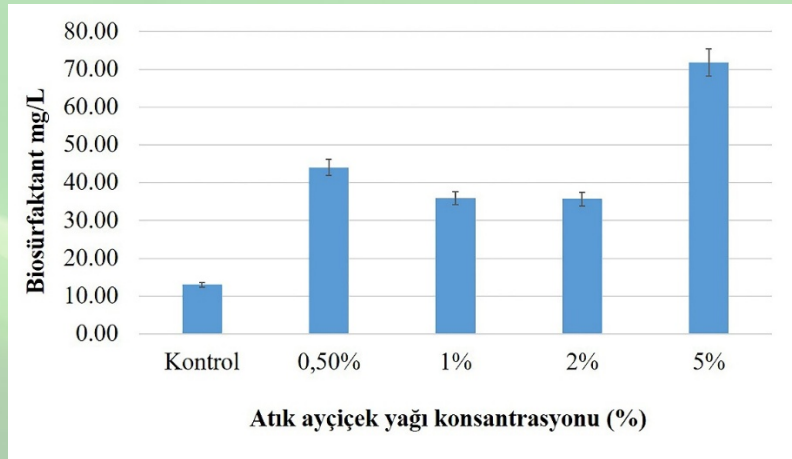
Şekil 3. Kanlı (%5 koyun kanı) agar üzerinde *A. caviae* LipT51'in hemolitik aktivitesi

Köpük testi sonuçlarına göre, Şekil 4'te gösterildiği gibi, zeytinyağı içeren numunelerde %56 oranında belirgin bir köpük oluşumu gözlemlenmiştir. Buna karşın, kontrol grubunda herhangi bir köpüklenme meydana gelmemiştir, bu da biyosüpfaktan üretiminin varlığını destekleyen önemli bir bulgu olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 4. %1'lik zeytinyağı içeren ortamda geliştirilen *A. caviae* süpernatatının köpük yüksekliği ölçümü

Biyosüpfaktan miktarının belirlenmesinde kullanılan fenol-sülfürik asit yöntemi kapsamında, öncelikle standart bir L-ramnoz kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Daha sonra farklı miktarlarda (%0,5, 1, 2, ve 5) atık ayçiçek yağı içeren kültürlerdeki biyosüpfaktan üretimleri karşılaştırılmıştır. Elde edilen standart eğriye göre yapılan hesaplamalara göre en yüksek biyosüpfaktan üretimi Şekil 5'te görüldüğü üzere %5 atık ayçiçek yağı içeren kültürde elde edilmiştir.



Şekil 5. Farklı atık ayçiçek yağı konsantrasyonlarının biyosüpfaktan üretimine etkisi

Gerçekleştiren analizler sonucunda *A. caviae* LipT51 suşunun biyosüpfaktan ürettiği belirlenmiş ve yapılan testlerde yüzey aktif özellikler sergilediği görülmüştür. Parafilm M testi ve yağ yayma testi sonuçları biyosüpfaktan varlığını doğrulamıştır. E24 emülsifikasyon indeksi, biyosüpfaktanın emülsiyon oluşturma yeteneğini gösterirken, CTAB agar yöntemi ile glikolipid yapısındaki biyosüpfaktanların varlığı tespit edilmiştir. Ayrıca, hemolitik aktivite testi pozitif sonuç vermiş ve biyosüpfaktanın biyolojik aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Köpüklenme testi sonuçları, biyosüpfaktanın stabil köpük oluşturma kapasitesine sahip olduğunu ortaya koymuştur.



Bu bulgular, *A. caviae*'nin biyosüpfaktan üretiminde etkili bir mikroorganizma olabileceğini ve biyoteknolojik uygulamalarda değerlendirilebileceğini göstermektedir. Özellikle çevresel biyoremediasyon, petrol kirliliğinin giderilmesi, tarım, gıda ve farmasötik endüstrilerinde biyolojik ajan olarak *A. caviae* kaynaklı biyosüpfaktanın önemli bir potansiyel taşıdığı görülmektedir. Gelecekte yapılacak çalışmalarda, biyosüpfaktan üretim verimliliğini artırmak, biyosüpfaktanın kimyasal yapısını analiz etmek ve antimikrobiyal özelliklerini araştırmak üzerine olacaktır.

Teşekkür

Bu makale, Sümeyra Gürkök tarafından yönetilen “*Aeromonas caviae* ile Biyosüpfaktan Üretimi ve Biyosüpfaktanın Biyoteknolojik Kullanım Alanlarının Araştırılması” başlıklı yüksek lisans tezinden üretilmiştir. (Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Erzurum/Türkiye, 2025). Bu araştırma Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından [FYL-2024-13379] numaralı proje kapsamında desteklenmiştir.

Kaynaklar

- Adetunji, C. O. (Ed.). (2022). *Applications of biosurfactant in agriculture*. Academic Press.
- Banat, I. M., Franzetti, A., Gandolfi, I., Bestetti, G., Martinotti, M. G., Fracchia, L., ... & Marchant, R. (2010). Microbial biosurfactants production, applications and future potential. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 87, 427–444. <https://doi.org/10.1007/s00253-010-2589-0>
- Cooper, D. G., & Goldenberg, B. G. (1987). Surface-active agents from two *Bacillus* species. *Applied and Environmental Microbiology*, 53(2), 224–229. <https://doi.org/10.1128/aem.53.2.224-229.1987>
- El-Sheshtawy, H. S., & Doheim, M. M. (2014). Selection of *Pseudomonas aeruginosa* for biosurfactant production and studies of its antimicrobial activity. *Egyptian Journal of Petroleum*, 23(1), 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.ejpe.2014.02.001>
- Gurkok, S. (2022). Screening of high yield biosurfactant producing strains of agribiotechnological importance. In *Applications of Biosurfactant in Agriculture* (pp. 163–180). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822921-7.00002-7>
- Gurkok, S., & Ozdal, M. (2023). Screening Methods for Biosurfactant-Producing Microorganisms. In *Multifunctional Microbial Biosurfactants* (pp. 1–24). Cham: Springer Nature Switzerland. https://doi.org/10.1007/978-3-031-31230-4_1
- Gürkök, S., & Özdal, M. (2021). Microbial biosurfactants: properties, types, and production. *Anatolian Journal of Biology*, 2(2), 7–12.
- Jahan, R., Bodratti, A. M., Tsianou, M., & Alexandridis, P. (2020). Biosurfactants, natural alternatives to synthetic surfactants: Physicochemical properties and applications. *Advances in Colloid and Interface Science*, 275, 102061. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2019.102061>
- Kugaji, M., Ray, S. K., Parvatikar, P., & Raghu, A. V. (2025). Biosurfactants: A review of different strategies for economical production, their applications and recent advancements. *Advances in Colloid and Interface Science*, 103389. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2024.103389>
- Kumar, P., & Dubey, R. C. (Eds.). (2023). *Multifunctional Microbial Biosurfactants*. Springer.
- Morikawa, M., Hirata, Y., & Imanaka, T. (2000). A study on the structure–function relationship of lipopeptide biosurfactants. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1488(3), 211–218. [https://doi.org/10.1016/s1388-1981\(00\)00124-4](https://doi.org/10.1016/s1388-1981(00)00124-4)
- Mulligan, C. N., Cooper, D. G., & Neufeld, R. J. (1984). Selection of microbes producing biosurfactants in media without hydrocarbons. *Journal of Fermentation Technology*, 62(4), 311–314.
- Ozdal, M., Gurkok, S., & Ozdal, O. G. (2017). Optimization of rhamnolipid production by *Pseudomonas aeruginosa* OG1 using waste frying oil and chicken feather peptone. *3 Biotech*, 7, 1–8. <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0774-x>
- Ozdal, M., Gurkok, S., & Yildirim, V. (2023). Applications of Microbial Biosurfactants in Detergents. In *Multifunctional Microbial Biosurfactants* (pp. 363–381). Cham: Springer Nature Switzerland. https://doi.org/10.1007/978-3-031-31230-4_17
- Pierre, E., Shaw, E., Corr, B., Pageau, K., & Rippe, S. (2025). Applications of rhamnolipid surfactants in agriculture. *Plant Stress*, 100749. <https://doi.org/10.1016/j.stress.2025.100749>
- Sharma, M., Rathore, A., Sharma, S., Sadhu, V., & Reddy, K. R. (2025). Biosurfactants: Production Methods, Properties and Their Applications in Food Industry. *Sustainable Nanomaterials for Treatment and Diagnosis of Infectious Diseases*, 365–392. <https://doi.org/10.1002/9781394200559.ch14>
- Siegmund, I., & Wagner, F. (1991). New method for detecting rhamnolipids excreted by *Pseudomonas* species during growth on mineral agar. *Biotechnology Techniques*, 5(4), 265–268. <https://doi.org/10.1007/BF02438660>

