

БІОСИНТЕЗ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН НА ПРОМИСЛОВИХ ВІДХОДАХ

Т. П. ПИРОГ, А. П. СОФІЛКАНИЧ, А. Д. КОНОН, Н. А. ГРИЦЕНКО

Національний університет харчових технологій, Київ, Україна

E-mail: tapirog@nuft.edu.ua

Отримано 02.06.2014

Наведено дані літератури і власних експериментів щодо синтезу мікробних поверхнево-активних речовин різноманітної хімічної природи (рамноліпідів, софороліпідів, манозилеритритолліпідів, ліпопептидів) на відходах (олійно-жирової, цукрової, молочної промисловості, сільського і лісового господарства, виробництва біодизеля, а також на відпрацьованих — пересмажених рослинних оліях). Найпридатнішими субстратами для синтезу мікробних поверхнево-активних речовин є олієвмісні відходи, які, на відміну від, наприклад, лігноцелюлозних, молочної сироватки, технічного гліцеролу, не потребують попереднього оброблення та очищення.

Заміна традиційних субстратів для біосинтезу поверхнево-активних речовин відходами промислових виробництв дасть змогу знизити собівартість технології у кілька разів, а також утилізувати непотрібні відходи, зняти з підприємств харчової промисловості, сільськогосподарського сектору та підприємств, які виробляють біодизель, проблему зберігання або знешкодження значної маси відходів, на що витрачається велика кількість енергії та коштів.

Ключові слова: мікробні поверхнево-активні речовини, промислові відходи.

Унікальні властивості мікробних поверхнево-активних речовин (ПАР) зумовлюють їх використання у різноманітних галузях промисловості замість хімічно синтезованих аналогів. ПАР мікробного походження набули застосування для вирішення низки практичних завдань, що гостро постали перед людством: усунення екологічних проблем (забруднення ґрунтів і водою токсичними ксенобіотиками, що загрожує екологічною катастрофою), пошук альтернативних анти-мікробних препаратів проти резистентних мікроорганізмів, а також фітопатогенних бактерій. Проте можливість практичного застосування мікробних ПАР залежить насамперед від економічної ефективності їх виробництва. Одним зі способів здешевлення технології одержання ПАР мікробного походження є використання дешевих ростових субстратів, зокрема відходів деяких виробництв.

На цей час у світі спостерігається підвищений інтерес до застосування мікробних ПАР у різних галузях промисловості, що зумовлено їхньою екологічною безпечністю та високою ефективністю [1–3]. Проте не-

зважаючи на очевидні переваги мікробних ПАР перед синтетичними аналогами існують проблеми, пов'язані з їх промисловим виробництвом. У зв'язку з цим дослідження останнього десятиліття фокусуються на визначенні підходів до здешевлення технологій мікробних ПАР [4, 5]. Згідно із Syldatk і співавт. [6] чинниками, які лімітують використання ПАР мікробного походження у промислових масштабах, є висока вартість субстратів для їх синтезу, невисокий вихід продукту, а також утворення суміші сполук, а не однієї чистої речовини. Ці фактори, а також інші тонкощі технологічного виробництва ПАР (наприклад, необхідність додавання піногасника, високовартісне обладнання тощо) зумовлюють високу вартість кінцевого продукту. Визначено, що для здешевлення технологій мікробних ПАР необхідно: 1) детальне вивчення метаболізму та шляхів синтезу ПАР конкретним мікроорганізмом-продуцентом, на основі чого здійснюється оптимізація складу живильного середовища та уможливується використання дешевих субстратів (відходів інших виробництв); 2) підвищення ефективності

біосинтезу за рахунок оптимізації умов культивування продуцента, вибору економічно вигідного способу виділення та очищення продукту; 3) збільшення виходу ПАР завдяки використанню високопродуктивних мутантних штамів мікроорганізмів [7–9].

Застосування агропромислових відходів є найбільш доцільним способом здешевлення технологій мікробних ПАР, адже рослинна біомаса є доступною відновлюваною сировиною, яка містить необхідні для росту мікроорганізмів поживні речовини [5, 8, 10]. Також перспективними субстратами для синтезу ПАР є відходи інших галузей промисловості, зокрема харчової чи нафтопереробної [11–13]. Окрім здешевлення технологій мікробних ПАР за рахунок використання промислових відходів як ростових субстратів, такий підхід матиме і позитивний екологічний ефект, оскільки дасть змогу утилізувати відходи, які у значних кількостях потрапляють у навколишнє середовище [5, 8, 10].

Нафтовмісні відходи як субстрати для синтезу ПАР

Нафтовмісні відходи є найбільш наближеними за хімічним складом до гідрофобних субстратів (наприклад, гексадекану), традиційно використовуваних для біосинтезу ПАР. Також варто зазначити, що ці відходи є екологічно найнебезпечнішими, і питання щодо їх утилізації постало досить гостро.

До таких відходів належить, зокрема, відпрацьована моторна олива. У роботі [14] наведено приклад використання цього відходу (2%, об'ємна частка) як субстрату для синтезу ПАР *Corynebacterium kutscheri* sp. на ферментаційному обладнанні (3 л). Максимальну концентрацію ПАР було зафіксовано на 132-гу год культивування — 6,4 г/л. Встановлено, що досліджуваний штам синтезував ПАР гліколіпопептидної природи, що складалися на 40% із вуглеводів, на 27% — ліпідів і на 29% — протеїнів [14].

Відомо, що недоліком використання нафтовмісних відходів як субстратів для біосинтезу є наявність у їхньому складі токсичних речовин (фенолу та його похідних), які можуть пригнічувати ріст мікроорганізмів-продуцентів [15]. Було досліджено антимікробну дію мінеральних моторних олив (ММО) на низку штамів *Rhodococcus erythropolis*: УКМ Ас-31, УКМ Ас-43, УКМ Ас-44, УКМ Ас-48, УКМ Ас-50, УКМ Ас-58, УКМ Ас-73 та УКМ Ас-77 [16]. Показано, що всі без винятку штами були чутливі до концентрації фенолу 0,06 г/мл та стійкі

до 0,005 г/мл. Встановлено, що найбільша чутливість до цієї сполуки була притаманна штамам УКМ Ас-31, УКМ Ас-44 та УКМ Ас-50 (відсутність росту за додавання 0,01 г/мл фенолу), стійкішими виявилися штами УКМ Ас-43, УКМ Ас-48, УКМ Ас-58 та УКМ Ас-73, а найрезистентнішим — штам УКМ Ас-77 (витримував концентрацію фенолу 0,05 г/мл) [16].

Слід зауважити, що дотепер ізольовано велику кількість мікроорганізмів, здатних асимілювати фенол у достатньо високих концентраціях. Особливо активними деструкторами цієї сполуки є бактерії родів *Acinetobacter* і *Pseudomonas* [17–20]. Так, штами *Acinetobacter* sp. PD12 і *Pseudomonas* sp. PD39 утилізували фенол за концентрації 1100 мг/л. Ефективність очищення стічних вод, що містили 800 мг/л фенолу, штамом PD39 через 72 год становила 99,96%. Зважаючи на переваги використання іммобілізованих клітин, штам PD12 було закріплено на гелевій матриці. При цьому клітини зберігали свою метаболічну активність. Дослідження показали, що штам PD12 утилізував фенол (500 мг/л) на 99,6% упродовж 9 год [20]. Здатність до асиміляції фенолу притаманна не тільки бактеріям, а й дріжджам *Candida tropicalis* [21]. Так, ці дріжджі з високою швидкістю утилізували 500 мг/л фенолу, за концентрації 1000 мг/л тривалість процесу збільшувалась, а за 1500–2000 мг/л фенолу ріст дріжджів припинявся. Слід зазначити, що у процесі досліджень також було виявлено здатність *C. tropicalis* до синтезу ПАР [21].

У роботі [22] показано здатність *Bacillus tojavensis* ХН1 синтезувати біоємальгатор (2,07 г/л) під час культивування у живильному середовищі, що містило як субстрати 3% рідких парафінів та 8,5% глюкози, а також 1,5% дріжджового екстракту, 3,36 г/л амонію хлориду, 15 г/л фосфатів.

Незважаючи на те, що нафтовмісні відходи за хімічним складом є найбільш наближеними до традиційних субстратів для синтезу ПАР, вартість їх є порівняно високою, а наявність у їхньому складі сторонніх токсичних домішок негативно впливає на більшість продуцентів.

Використання олієвмісних субстратів для синтезу мікробних ПАР

Світове виробництво олій становить близько 2,5–3 млн. т, 75% з них одержують переважно із рослинної сировини [23]. На підприємствах, що переробляють рослинну сировину, утворюється значна кількість відходів, потрапляння яких у навколиш-

не середовище є надзвичайно небезпечним [8, 11]. Нерафіновані олії, одержані з олійних культур, містять вільні жирні кислоти, моно-, ди- та триацилгліцериди, фосфатиди, пігменти, стиролі, токоферолі, гліцерол, вуглеводи, вітаміни, фрагменти протеїнів, мікроелементи, гліколіпіди, а також пестициди, смоли тощо [23]. Утворення тих чи інших відходів залежить від регіону, де зосереджено виробництво, та типу олії, що виготовляється. Наприклад, Бразилія є одним з основних виробників рослинних олій, таких як соєва, пальмова та олії бабасу. Частина гідрофузу (фуз — один із відходів після стадії нейтралізації у процесі рафінування олії) становить 2–3% від загальної кількості олії, що виробляється в цій країні [24]. Значна кількість подібних відходів утворюється в Індії, на підприємствах, що виготовляють соєву, соняшникову, оливкову, арахісову, рапсову, кунжутну, кокосову, пальмову та гірчичну олії [8]. У США процеси рафінування соєвої олії супроводжуються утворенням майже 3 млрд. л фузу, вартість якого у 10 разів нижча, ніж вартість олії [23]. Викиди таких відходів у навколишнє середовище у більшості країн світу заборонені, а хімічне знешкодження є економічно недоцільним.

На території України олієвмісні відходи є дешевими і доступними в кількостях, необхідних для використання у мікробних технологіях, особливо з урахуванням того факту, що в цьому разі підприємства галузі вирішують і проблему перероблення, зберігання та списання відходів згідно з наказом Міністерства аграрної політики України №656 від 11.09.2009 «Про затвердження порядку обліку сировини, матеріалів та готової продукції на підприємствах олійно-жирової галузі». Зазначимо, що ціни на соняшниковий шрот у світі залишаються невисокими — не вище 100 дол. США за тону, а пропозиція істотно перевищує попит. Використання олієвмісних відходів як субстратів для синтезу ПАР дасть змогу не лише вирішити проблему утилізації, а й знизити їхню собівартість.

Рослинні олії як субстрати для синтезу ПАР

Уперше можливість синтезу ПАР на олієвмісних субстратах було встановлено на початку 90-х років ХХ ст. Так, Mercade і співавт. показали можливість утворення рамноліпідів *Pseudomonas aeruginosa* 47T2 на стоках після виготовлення оливкової олії (значна кількість цих відходів утворюється в Іспанії) [25]. Kitamoto і співавт. досліджували поверхневі та антимикробні властивості

двох типів манозилеритритолліпідів, синтезованих *Candida antarctica* T-34 на соєвій олії [26]. Згодом для підвищення ефективності процесу біосинтезу ПАР почали використовувати суміш субстратів. Наприклад, у роботі [27] описано здатність *Candida bombicola* синтезувати софороліпіди за умов росту на живильному середовищі, що містило два джерела вуглецю. Одним із субстратів були легкозасвоювані вуглеводи, наявність яких стимулювала синтез біомаси, а іншим — соняшникова олія. Концентрація софороліпідів за культивування дріжджів на суміші таких субстратів в оптимальних умовах через 8 діб становила 120 г/л [27]. Rau і співавт. вносили олеїнову кислоту або рапсову олію як додаткове джерело вуглецю у середовище з глюкозою у процесі періодичного, а також безперервного культивування *C. bombicola* ATCC 22214. Концентрація софороліпідів становила понад 300 г/л, а продуктивність — 57 і 76 г/л за добу у разі періодичного та безперервного культивування відповідно [28].

У наступні роки з'являлося дедалі більше інформації про використання найрізноманітніших олій для синтезу ПАР. Vollbrecht і співавт. показали здатність *Tsukamurella* sp. (DSM 44370) продукувати суміш гліколіпідів у процесі культивування на соняшниковій олії. Штам синтезував близько 30 г/л ПАР зі 110 г/л олії [29]. У роботі [30] описано можливість застосування рапсової олії як джерела вуглецю для синтезу рамноліпідів *Pseudomonas* sp. DSM 2874, при цьому утворювалося 45 г/л ПАР. Thaniyavarn і співавт. [31] досліджували біосинтез ПАР *P. aeruginosa* A41 на живильному середовищі з 2% рослинної олії або жирних кислот. Культуральна рідина характеризувалася високими поверхнево-активними властивостями, а здатність до синтезу ПАР зберігалась навіть у пізній стаціонарній фазі росту штаму A41. Максимальна кількість продукту утворювалася за використанням оливкової олії (6,58 г/л), тоді як на пальмовій та кокосовій олії синтезувалося 2,91 та 2,93 г/л ПАР відповідно [31].

Відомо, що використовувати пальмову олію (2%) для синтезу ПАР можуть штами *Bacillus subtilis* PT2 та *P. aeruginosa* SP4 [32]. Під час культивування в оптимальних умовах поверхневий натяг культуральної рідини штамів PT2 і SP4 знижувався до 26,4 та 28,3 мН/м відповідно, а показник критичної концентрації міцелоутворення при цьому становив 25 та 120 мг/л [32]. Найкращим джерелом вуглецю для синтезу рамноліпідів

Pseudomonas fluorescens Migula 1895-DSMZ виявилася оливкова олія. За співвідношення C/N у середовищі культивування, що дорівнювало 10, спостерігали зниження поверхневого натягу до 30 мН/м [33]. Oliveira зі співавт. [24] вивчали можливість використання пальмової олії для синтезу ПАР *Pseudomonas alcaligenes* (штам виділено із забрудненого нафтою ґрунту). Кінцева концентрація продукту становила 2,3 г/л, а індекс емульгування в разі використання як субстратів гексану, реактивного палива та сирові нафти — понад 70% [24].

Встановлено здатність дріжджів *Trichosporon montevidense* CLOA 72 продукувати гліколіпіди за умов росту в середовищі із соняшниковою олією. З'ясовано, що ці ПАР утворювали стійкі емульсії (78,66% за наявності 4,5 мг/мл ПАР) із рослинними оліями, толуолом, гасом, ізооктаном, циклогексаном, гексаном, дизельним паливом та гексадеканом, причому емульсії характеризувалися високою стабільністю за високої температури (100 °С, 10–60 хв), солоності (30% NaCl, KCl та NaHCO₃) і в широкому діапазоні рН (1–10) [34].

Суміш меляси цукрової тростини і трьох різних олій (соевої, соняшникової та оливкової) використовували для одержання софороліпідів *S. bombicola* [35]. Концентрація ПАР на суміші субстратів становила 24 г/л і була майже такою, як на живильному середовищі, що містило дріжджовий екстракт, сечовину, соєву олію та глюкозу. У подальшому досліджували вплив низки параметрів на утворення софороліпідів *S. bombicola* [36]. Показано, що максимальна концентрація ПАР становила 60 г/л за культивування продуцента у ферментері на живильному середовищі з 50 г/л меляси цукрової тростини, 50 г/л соєвої олії, концентрації інокуляту 5% (об'ємна частка), при температурі 30 °С та швидкості обертання мішалки 200 об/хв [36].

Müller зі співавт. [37] як субстрат для біосинтезу рамноліпідів за періодичного культивування *P. aeruginosa* PAO1 у біореакторі (30 л) використовували соняшникову олію. У результаті досліджень було встановлено, що основна кількість цільового продукту синтезувалася в експоненційній та на початку стаціонарної фази росту. Концентрація ПАР досягала максимуму (39 г/л) на 9-ту добу культивування і залишалася незмінною до кінця процесу ферментації, тому продовження процесу культивування понад 100 год виявилось недоцільним. На 9-ту добу ступінь споживання субстрату становив 70% [37].

Синтез ПАР на відходах виробництва рослинних олій

Ще на початку XXI ст. Abalos і співавт. [38] повідомляли про використання відходів виробництва соєвої олії для одержання рамноліпідів *P. aeruginosa* AT110. Максимальної концентрації синтезованих ПАР (9,5 г/л) досягали в разі реалізації двостадійного процесу, на першій стадії якого (тривалість 72 год) продуктивність синтезу рамноліпідів становила 0,06 г/(л·год), а на другій (72–96 год) підвищувалася до 0,22 г/(л·год), і більша частина продукту виділялась у середовище (5,64 г/л). Синтезовані ПАР було перевірено на антимікробні властивості. Встановлено, що їм притаманні фунгіцидні властивості проти *Aspergillus niger* та *Gliocadium virens* (16 мг/мл); *Chaetium globosum*, *Penicillium crysogenum* і *Aureobasidium pullulans* (32 мг/мл), *Botrytis cinerea* і *Fusarium solani* (18 мг/мл) [38]. Benincasa зі співавт. показали здатність *P. aeruginosa* LBI до синтезу рамноліпідів (15,9 г/л) за використання соняшникового фузу як єдиного джерела вуглецю та енергії [39].

У подальшому дослідження біосинтезу ПАР на олієвмісних відходах ставало дедалі актуальнішим. Nitschke і співавт. також розглядали відходи виробництва олій як альтернативні субстрати для синтезу рамноліпідів *P. aeruginosa* LBI [40]. У роботі використовували відходи після виробництва соєвої, бавовняної, пальмової, кукурудзяної олії та олії бабасу. Найбільша кількість ПАР синтезувалася на соєвому фузі (11,7 г/л), вихід продукту від субстрату при цьому становив 75% [40]. Проведені дослідження свідчать про можливість застосування дешевої сировини для виробництва рамноліпідів, які згодом можна використовувати у фармацевтичній або харчовій промисловості [41].

Відходом, утворюваним під час перероблення сої, є соєва патока, що містить легкозасвоювані вуглеводи (30%, масова частка) і близько 60% нерозчинних цукрів, тому її можна використовувати як субстрат для утворення ПАР. Підвищене споживання їжі на основі соєвого протеїну призвело до збільшення об'ємів перероблення сої і, як наслідок, до накопичення відходів [42]. Соєву патоку було використано для синтезу софороліпідів *S. bombicola* [43]. На початкових етапах концентрація ПАР становила 21 г/л, а в подальшому була підвищена до 55 г/л, при цьому вдалося досягти ще більшого здешевлення живильного середовища внаслідок вилучення з його складу дріжджового екстракту та сечовини [44].

Thavasi зі співавт. для синтезу мікробних ПАР після виробництва арахісової олії застосовували макуху [45]. Арахісова макуха є джерелом вуглеводів, протеїнів та ліпідів, а її вартість є низькою порівняно із традиційними субстратами для синтезу ПАР. Автори встановили, що *Bacillus megaterium*, *Azotobacter chroococcum* та *Corynebacterium kutscheri* синтезували ПАР на цьому субстраті [45]. Максимальної концентрації ПАР (6,4 г/л) досягали на 132-гу год культивування *C. kutscheri* на арахісовій макусі. За хімічною природою ПАР були гліколіпопептидами, здатними до емульгування відходів моторних мастил, сирої нафти, арахісової олії, гасу, дизеля, ксилену, нафталену та антрацену [14]. Нещодавно ця група дослідників повідомила про здатність *Lactobacillus delbrueckii* до утворення ПАР (5,35 г/л) за культивування на арахісовій макусі [46].

У роботі [47] показано здатність *Enterobacter* sp. MS16 до росту та синтезу ПАР на таких відходах, як соняшникова та арахісова макуха, меляса. Встановлено, що найбільша кількість ПАР (1,5 г/л) утворювалася за використання як субстрату соняшниккової макухи, при цьому спостерігали зниження поверхневого натягу на 68%.

Застосування для синтезу ПАР пересмаженої рослинної олії

Одним із найдешевших олієвмісних відходів є пересмажена олія, що в значних кількостях утворюється в закладах громадського харчування [48–50]. Встановлено, що в середньому 100 млрд. л пересмаженої олії утворюється в одних лише США. Після використання олія змінює свій склад і містить понад 30% полярних сполук, що залежить від типу приготованої страви, способу смаження та кратності використання олії [51].

Наба зі співавт. [52] здійснили скринінг 36 мікроорганізмів щодо здатності синтезувати ПАР на відпрацьованій соняшниккової або оливкової олії (2%). Задовільні результати було одержано для представників роду *Pseudomonas*, причому кращий ріст і синтез ПАР спостерігали за використанням як субстрату пересмаженої оливкової олії. Поверхневий натяг при цьому знижувався до 35 мН/м, а емульсія з гасом за наявності даних ПАР залишалася стабільною упродовж трьох місяців. Гіршими були показники для представників роду *Bacillus* (зниження поверхневого натягу до 35–40 мН/м) [52].

Низку пересмажених олій було досліджено як альтернативні джерела вуглецю для синтезу ПАР мутантним штамом *P. aeru-*

ginosa EBN-8 у присутності та за відсутності попередника рамноліпідної природи в умовах періодичного культивування [53]. Показано, що в разі використання посівного матеріалу, вирощеного на гексадекані, інтенсифікувався процес біосинтезу ПАР штамом EBN-8 на пересмаженій олії через наявність невеликої їх кількості на початку культивування. Кількість синтезованих ПАР за таких умов культивування становила (залежно від типу відпрацьованої олії) 3,6–4,1 г/л, тимчасом як на середовищі без ПАР — 3–3,3 г/л. Максимальну концентрацію ПАР (9,3 г/л) і найвищу продуктивність (2,7 г/г·год) спостерігали за умов росту штаму EBN-8 на пересмаженій соєвій олії. Поверхневий натяг супернатанта культуральної рідини (КР) становив 29,1 мН/м, а значення міжфазного натягу системи КР-гексадекан — менше 1 мН/м, індекс емульгування КР коливався в межах 89,7–92,3% [53].

Shah і співавт. досліджували синтез софороліпідів *C. bombicola* за періодичного культивування у колбах на качалці та в лабораторному ферментері за дробового внесення субстрату — пересмаженої олії або олеїнової кислоти [48]. Кінцева концентрація ПАР становила 34 г/л на пересмаженій олії та 42 г/л на олеїновій кислоті. Різний вихід кінцевого продукту на досліджуваних субстратах автори пов'язували зі зміною вмісту жирних кислот в олії після смаження [48]. Zhu зі співавт. показали можливість одержання рамноліпідів *Pseudomonas aeruginosa* zju.u1M на пересмаженій олії як єдиному джерелі вуглецю та енергії [54]. За культивування в колбах на качалці максимальна концентрація ПАР становила 12,47 г/л. За умов росту мутантного штаму, одержаного з вихідного в результаті ультрафіолетового опромінення, кількість синтезованих ПАР збільшилася до 24,61 г/л. На наступному етапі вчені досліджували синтез рамноліпідів у біореакторі об'ємом 50 л. При цьому кількість утворених ПАР перевищувала 20 г/л [54]. Описані дослідження демонструють можливість реалізації промислового виробництва софороліпідів та рамноліпідів із використанням пересмаженої олії як субстрату.

Sadouk і співавт. з метою зниження кінцевої вартості мікробних ПАР використовували пересмажену соняшникову олію (3%, об'ємна частка) для культивування *Rhodococcus erythropolis* 16 LM.USTHB [55]. Показано, що індекс емульгування культуральної рідини становив 63%, а поверхневий натяг знижувався до 31,9 мН/м. Автори акцентува-

ли увагу на можливості використання ПАР *R. erythropolis* 16 LM.USTNB з мінімальним ступенем очищення у нафтовидобувній промисловості, а також для видалення вуглеводневих забруднень із навколишнього середовища [55]. У роботі [56] описано синтез ПАР *P. aeruginosa* PACL у біореакторах об'ємом 6 та 10 л за використання як субстрату пересмаженої соєвої олії. Після оптимізації умов культивування найбільша кількість рамноліпідів (концентрація рамнози 3,3 г/л) утворювалася у разі застосування звичайної соєвої олії (контроль), тоді як на пересмаженій олії концентрація ПАР становила 75–90% від такої у контрольному варіанті. При цьому індекс емульгування культуральної рідини досягав 100%, а поверхневий натяг — 26,0 мН/м [56]. Ліпід зі співавт. [57], порівнюючи синтез біоемульгатора *Dietzia* sp. S-JS-1 на відходах, встановили, що кращі емульгувальні властивості були притаманні ліпопептидам, утвореним за умов росту продуцента на пересмаженій олії. Так, індекс емульгування становив 88,3%, а через 5 год знижувався до 76,4%. У роботі [58] досліджували можливість виділення рамноліпідів у процесі вирощування *P. aeruginosa* ATCC 10145 на середовищі з пересмаженими харчовими оліями. За таких умов культивування штам продукував 2,8–7,5 г/л ПАР.

Раніше із забруднених нафтою зразків ґрунту нами було ізольовано нафтоокиснювальні бактерії, ідентифіковані як *Acinetobacter calcoaceticus* К-4 (ІМВ В-7241), *Rhodococcus erythropolis* ЭК-1 (ІМВ Ас-5017), *Nocardia vaccinii* К-8 (ІМВ В-7405), і встановлено їхню здатність синтезувати метаболіти з поверхнево-активними та емульгувальними властивостями на різних гідрофобних і гідрофільних субстратах [59–63].

Подальші дослідження показали можливість використання відпрацьованої соняшникової олії для біосинтезу ПАР штамми ІМВ Ас-5017, ІМВ В-7241 і ІМВ В-7405. Так, показники синтезу ПАР за умов росту досліджуваних штамів на середовищі з відпрацьованою олією (2%, об'ємна частка) були у 2–2,5 рази вищі, ніж на традиційних гідрофобних субстратах. Використання інкуляту, вирощеного на вуглеводних субстратах, дало змогу підвищити синтез позаклітинних ПАР порівняно із застосуванням посівного матеріалу, одержаного на олієвмісних субстратах (рис. 1).

У наступних наших експериментах було встановлено, що внесення в середовище 0,1% глюкози супроводжувалось інтенсифікацією у 2–4 рази синтезу ПАР *R. erythropolis*

ІМВ Ас-5017 і *N. vaccinii* ІМВ В-7405 на відпрацьованій соняшниковій олії (2%). За таких умов культивування концентрація позаклітинних ПАР досягала 6,8 і 4,5 г/л для штамів ІМВ Ас-5017 і ІМВ В-7405 відповідно.

Таким чином, описані вище дослідження свідчать про можливість застосування звичайних та пересмажених рослинних олій, а також олієвмісних відходів після виробництва рафінованих олій як дешевих субстратів для біосинтезу ПАР мікробного походження. У табл. 1. наведено узагальнені дані щодо синтезу ПАР на олієвмісних субстратах деякими мікроорганізмами.

У роботі [66] автори вирощували штам *P. aeruginosa* МА01 на середовищі, що містило лише 10 г/л соєвої олії. Малоймовірно, що за таких умов культивування концентрація синтезованих ПАР може досягти 12 г/л, як зазначають дослідники.

Перевагою використання олієвмісних субстратів є не лише їхня низька вартість, а й те, що у більшості випадків немає потреби вносити в живильне середовище додаткові субстрати або фактори росту, оскільки олієвмісна сировина містить значну кількість життєво важливих нутрієнтів. Найбільш відомими та високопродуктивними продуцентами мікробних ПАР є представники роду *Pseudomonas*, які утворюють рамноліпідів (табл. 1). Проте основним недоліком застосування псевдомонад на практиці є належність їх до умовно патогенних мікроорганізмів, які несуть потенційну загрозу для здоров'я

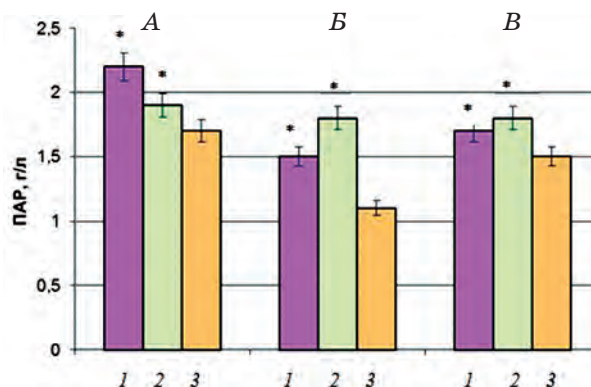


Рис. 1. Вплив якості інкуляту на синтез ПАР за умов росту штамів: ІМВ Ас-5017 (А), ІМВ В-7241 (В), ІМВ В-7405 (В) на відпрацьованій олії; Джерело вуглецю у середовищі для одержання інкуляту (0,5%): 1 — м'яса; 2 — глюкоза; 3 — соняшникова олія (контроль). Тут і на рис. 2 * — $P < 0,05$ відносно контролю.

Таблиця 1. Утворення мікробних поверхнево-активних речовин на олієвмісних субстратах

Штам	Субстрат, концентрація	Концентрація ПАР, г/л	Посилання
<i>P. aeruginosa</i> A41	Оливкова олія (2%)	6,58	[31]
<i>P. aeruginosa</i> EBN-8	Пересмажена олія (рапсова, соєва або кукурудзяна, 2%)	7,2–9,3 (залежно від типу олії)	[64]
<i>P. aeruginosa</i> EMS1	Соєва олія (2%)	5,0	[65]
<i>P. aeruginosa</i> PACL	Соєва олія (22 г/л)	3,3	[56]
<i>P. aeruginosa</i> LBI	Соєва олія (2%)	11,7	[41]
<i>P. aeruginosa</i> PAO1	Соняшникова олія (250 г/л)	39	[37]
<i>C. bombicola</i>	Меляса цукрової тростини (50 г/л), соєва олія (50 г/л)	60	[36]
<i>Enterobacter</i> sp. MS16	Соняшникова макуха	1,5	[47]
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 10145	Пересмажені харчові олії (2%)	2,8–7,5	[58]
<i>P. aeruginosa</i> MA01	Соєва олія	12	[66]

людей та тварин. Тому пошук штамів-продуцентів ПАР на олієвмісних відходах серед представників непатогенних родів і видів залишається актуальним.

*Трансформація відходів
молочної та цукрової промисловості
у ПАР мікробного походження*

Утилізація молочної сироватки. У результаті функціонування підприємств молочної галузі утворюються такі відходи, як молочна пахта, сироватка та їхні похідні. Молочна сироватка — побічний продукт виробництва сиру — багата на лактозу (75% сухих речовин) та інші органічні розчинні речовини (12–14% протеїнів) [67]. Відомо, що сироватка погано піддається біодеструкції, тому її потрапляння в довкілля може спричинити негативні наслідки. На сьогодні лише 50% утвореної сироватки переробляють на корисні продукти, наприклад харчові інгредієнти або корм для тварин, решту ж вважають відходами [67]. У зв'язку з поганою засвоюваністю сироватки інформація щодо її використання для синтезу ПАР трапляється рідко.

Так, наприкінці минулого сторіччя Daniel і співавт. повідомляли про синтез софороліпідів на живильному середовищі, що містило як субстрати концентрат сироватки та рапсову олію [68]. Проте було зазначено, що мікроорганізм-продуцент не утилізував лактозу. В іншій роботі Daniel і співавт. [69] показали високий вихід софороліпідів (близько 422 г/л) у процесі двостадійного культивування. На першому етапі концентрат депротейнізованої сироватки використовували для культивування *Cryptococcus curvatus* ATCC 20509. На наступному етапі

біомасу штаму ATCC 20509, одержану на першій стадії, гомогенізували під високим тиском та автоклали. Неочищений клітинний екстракт використовували як субстрат для культивування дріжджів *Candida bombicola* ATCC 22214 і синтезу софороліпідів. Daverey і Pakshirajan також повідомляли про утворення софороліпідів *C. bombicola* у живильному середовищі, що містило суміш молочної сироватки та глюкози, дріжджовий екстракт і олеїнову кислоту [70]. Вихід ПАР становив 34 г/л за оптимальних умов культивування. Проте в даному разі важко стверджувати, що утилізація лактози дійсно мала місце і софороліпідів синтезувалися не лише за рахунок споживання глюкози. Ще одним продуцентом ПАР, здатним використовувати як основне джерело вуглецю молочну сироватку, є *P. aeruginosa* BS2 [71]. Встановлено, що під час вирощування штаму BS2 на середовищі з молочною сироваткою поверхневий натяг зменшувався з 54 мН/м до 27 мН/м упродовж 96 год культивування, максимальна концентрація ПАР на 48-й год культивування становила 0,92 г/л [71]. Відомо, що псевдомонадам не притаманна здатність до споживання лактози. Ймовірно, для росту та біосинтезу ПАР вони використовують інші компоненти, наявні у молочної сироватці. Це вказує на те, що даний субстрат може бути універсальним для біосинтезу ПАР, проте в разі використання штамів, які не здатні засвоювати лактозу, питання щодо утилізації молочної сироватки залишається відкритим.

У роботі [72] повідомляється про біосинтез ПАР *Lactococcus lactis* 53 і *Streptococcus thermophilus* за умов росту на молочної сироватці та мелясі. З'ясовано, що використання

такого середовища дасть змогу заощадити на біосинтез 60–80% коштів [72]. Встановлено можливість застосування молочної сироватки як субстрату для культивування *Bacillus subtilis* 20B, *B. subtilis* R1, *B. licheniformis* K5, *Bacillus* HS3 — продуцентів ПАР. Показано, що штами R1 і K5 здатні синтезувати ПАР за умов росту на середовищі з молочною сироваткою, про що свідчить зниження поверхневого натягу до 34 мН/м та 35 мН/м відповідно та його стабільність після 100-кратного розведення дистильованою водою [67]. Досліджено здатність *P. aeruginosa* PP2 і *Kocuria turfanensis* J до синтезу ПАР на молочної сироватці. Встановлено, що синтезовані ПАР характеризувалися здатністю емульгувати пестициди за екстремальних значень факторів навколишнього середовища: рН 2–11, температура — до 121 °С, концентрація NaCl — до 15% [73].

Отже, сироватку можна розглядати як потенційний дешевий субстрат для синтезу ПАР, проте обмеженим колом мікроорганізмів. Очевидно, що доцільним нині є створення генно-інженерних штамів-продуцентів ПАР зі здатністю до утилізації лактози.

Меляса як субстрат для синтезу мікробних ПАР. Меляса є побічним продуктом виробництва цукру як із цукрової тростини, так і з цукрового буряку [74]. Основними причинами застосування меляси у біотехнологічних процесах є низька вартість порівняно з іншою цукровмісною сировиною, а також наявність у її складі ряду живильних речовин [8]. Як правило, меляса містить цукри (48–56% сахарози), протеїни, неорганічні речовини та вітаміни. Традиційно її використовують як корм для тварин, для виробництва пулулану, ксантану, лимонної кислоти та у спиртовій промисловості [75]. У низці досліджень показано, що меляса може бути субстратом для синтезу мікробних ПАР.

На початку 90-х років XX ст. Ghurye зі співавт. уперше повідомили про можливість нестерильного виробництва ПАР сумішшю культур мікроорганізмів за періодичного культивування у біореакторі на мелясі [76]. Вихід продукту було збільшено в результаті контролю рН та додавання дріжджового екстракту. Мелясу використовували для одержання ПАР під час культивування двох термофільних штамів: *B. subtilis* MTCC 2423 та MTCC1427, унаслідок чого відбувалося зниження поверхневого натягу до 29 і 32 мН/м відповідно [77]. У роботі Patel і Desai [78] йдеться про синтез рамноліпідів за умов росту *P. aeruginosa* GS3 на мелясі та кукуру-

дзяному екстракті як джерелах вуглецю та азоту. ПАР, що мали високі поверхнево-активні та емульгувальні властивості, було запропоновано використовувати для підвищення виходу нафти [78].

Можливість застосування соєвої меляси, порівняно недорогої та доступної сировини, для виробництва рамноліпідів з'ясовано в роботі Rashedi зі співавт. [79]. Встановлено, що питома швидкість синтезу ПАР за присутності 2, 4, 6, 8 та 10% меляси становила 0,00065; 4,556; 8,94; 8,85 і 9,09 відповідно, а вихід рамноліпиду — 0,003; 0,009; 0,053; 0,041 та 0,213 г/г біомаси відповідно [79]. Raza зі співавт. описали синтез ПАР мутантним штамом *P. aeruginosa* EBN-8 на освітленій мелясі як єдиному джерелі вуглецю та енергії [80]. Максимальний вихід рамноліпідів (1,45 г/л) спостерігали через 96 год культивування на мелясі (2%), збагаченій нітратом натрію.

У роботі [81] виявлено здатність штаму *P. aeruginosa* GS3 використовувати мелясу як субстрат для синтезу ПАР. При цьому найбільший рівень рамноліпідів спостерігали за внесення у живильне середовище меляси у концентрації 7% (об'ємна частка) та кукурудзяного екстракту (0,5%). На 96-ту год культивування концентрація рамноліпідів становила 0,25 г/л [81].

Abdel-Mawgoud і співавт. [82] визначили оптимальний склад середовища та умов культивування штаму *B. subtilis* BS5 з метою біосинтезу ПАР. У результаті вдалося значно спростити склад мінерального живильного середовища й виявити, що оптимальним джерелом вуглецю є меляса (160 мл/л). Кінцева концентрація сурфактину становила 1,2 г/л. Також було встановлено інгібувальний вплив вуглеводнів і олій на синтез ПАР [82]. Ці результати стали основою для подальших досліджень поверхнево-активних та емульгувальних властивостей сурфактину *B. subtilis* BS5 [83]. За концентрації ПАР 15,6 мг/л поверхневий натяг води знижувався із 70 до 36 мН/м. Індекс емульгування залежно від типу використаної олії становив 52–66%. ПАР були стійкими до дії високої температури (100 °С упродовж 1 год), а також автоклавування при 121 °С упродовж 10 хв), зберігали свої властивості в широкому діапазоні рН (5–13) [83].

Синтез рамноліпідів описано в роботі [84], в якій об'єктами дослідження були 18 штамів *Pseudomonas* sp. Серед цих мікроорганізмів найактивнішими продуцентами ПАР виявилися два штами: *Pseudomonas luteola* B17 і *Pseudomonas putida* B12, які

у подальшому використовували для дослідження синтезу ПАР за різних концентрацій меляси цукрового буряку (1–5%, масова частка). Показано, що збільшення концентрації меляси в середовищі від 1 до 5% (об'ємна частка) сприяло незначному підвищенню рівня синтезу рамноліпідів. Так, для штаму *P. luteola* В17 на 24-ту год культивування за концентрації меляси 1% кількість рамноліпідів становила 0,4 г/л, а за концентрації меляси 5% — 0,51 г/л. Водночас концентрація рамноліпідів штаму В12 на 24-ту, 48-му та 72-гу год культивування за однакової концентрації меляси (5%) залишалася майже незмінною: 0,5; 0,51 та 0,52 г/л відповідно [84].

Al-Bahry і співавт. досліджували можливість використання фінікової меляси для біосинтезу ПАР. Фінікові пальми (*Phoenix dactylifera* L.) поширені в Омані, на їхню частку припадає 82% врожаю фруктів. За додавання фінікової меляси у середовище культивування *B. subtilis* В20 вдалося одержати 2,29 г/л ПАР, які знижували поверхневий натяг води до 25–27 мН/м [85].

Отже, очевидно, що меляса може трансформуватися мікроорганізмами у ПАР, що дасть змогу суттєво здешевити їх промислове виробництво. Крім того, цей субстрат є доступним у багатьох країнах світу, що робить потенційне виробництво ПАР незалежним від економіки певної обмеженої території. Проте, як і в разі використання олієвмісних відходів, у більшості робіт як продуценти ПАР на мелясі розглядають представників псевдомонад. У роботі [86] вперше показано здатність представників родів *Blastococcus*, *Erysipelothrix*, *Humicoccus*, *Methylophilus*, *Microlunatus*, *Nevskia*, *Pectinatus*, *Rubrimonas*, *Selenomonas* та *Stenotrophomonas* утворювати ПАР на мелясі.

Утворення мікробних ПАР на лігноцелюлозних відходах

Лігноцелюлоза є одним з найпоширеніших джерел органічного вуглецю на Землі [8, 87] і міститься у складі різноманітних побутових відходів, а також відходів лісового та сільського господарства [88]. Подібні відходи здебільшого підлягають спаленню, унаслідок чого утворюється значна кількість вуглекислого газу, що посилює парниковий ефект. Лігноцелюлоза складається в основному з полімерів трьох видів — целюлози, геміцелюлози та лігніну, які тісно переплетені та хімічно поєднані нековалентними й ковалентними зв'язками. Мікробну деградацію цих макромолекул грибами і бактері-

ями добре вивчено. Зазвичай цю сировину використовують у виробництві етанолу та органічних кислот [87, 89, 90].

У літературі є поодинокі повідомлення про можливість синтезу мікробних ПАР на відходах, що містять лігноцелюлозу. З'ясовано, що цю сировину застосовували для синтезу молочної кислоти лактобацилами [91–93]. Відомо також, що представникам роду *Lactobacillus* притаманна здатність до утворення ПАР на синтетичних живильних середовищах [94].

Portilla-Rivera і співавт. [95] були першими, хто досліджував одночасний синтез ПАР та молочної кислоти бактеріями *Lactobacillus* sp. на геміцелюлозних гідролізатах, отриманих із різної сільськогосподарської сировини. Встановлено зниження поверхневого натягу у процесі культивування на геміцелюлозному гідролізаті із залишків виноградної лози, а ПАР-синтезувальна здатність становила 0,71 г/г біомаси. У своїй подальшій роботі автори з'ясовували можливість утилізації виноградних вичавок, підданих перегонці [96]. Під час виробництва вина після роздавлювання винограду утворюються вичавки, які в подальшому придатні для використання у виробництві спиртних напоїв і їх можна піддавати перегонці з метою вилучення етанолу [96]. Вичавки, що залишаються після одержання спирту, містять велику кількість геміцелюлози та органічних кислот і можуть слугувати субстратами для синтезу молочної кислоти та мікробних ПАР. У роботі [97] мікроорганізми-продуценти культивували на цукровмісному середовищі на основі гідролізату виноградних вичавок. Встановлено, що на такому живильному середовищі синтезувалося 4,8 мг/л асоційованих з клітинами ПАР *Lactobacillus pentosus*, вихід продукту становив 0,60 мг/г цукру [97]. У результаті подальшого вивчення властивостей ПАР було показано, що вони характеризувалися вищою стабільністю утворених емульсій порівняно із сурфактином та іншими ПАР [98].

У роботі [99] описано вилучення сурфактину *Bacillus pumilus* UFPEDA 448 за твердофазного культивування на живильному середовищі, яке містило окару (соева пульпа — продукт, що його одержують під час виробництва соєвого молока) та жом цукрової тростини (по 50%). Встановлено, що за оптимальних умов культивування утворювалось 3,3 г ПАР/кг сухих речовин. Автори зазначають, що це найвищий вихід ПАР, якого вдавалось досягти за твердофазного культивування нерекombінантного штаму, а кінцевий продукт не постунався власти-

востями сурфактину, синтезованому під час глибинної ферментації [99].

Таким чином, показано, що лігноцелюлозні відходи можуть бути використані для синтезу ПАР низкою мікроорганізмів. Безсумнівною перевагою такої сировини є те, що вона є відновлюваною і постійно доступною. Суттєвою перешкодою для використання лігноцелюлози у процесах біосинтезу є її нерозчинність, що потребує розроблення технологій твердофазного культивування. Окрім того, у більшості продуцентів ПАР відсутні ензими, відповідальні за гідроліз клітковини, тому з відходів, які її містять, слід попередньо готувати гідролізати.

Синтез ПАР мікробного походження на крохмалевмісній сировині

Основними культурами, з яких виготовляють крохмаль, є кукурудза, тапіока (маніокове саго, крохмалевмісна крупа, яку отримують із коренів маніоки), пшениця та картопля. Він також міститься у цукрових рослинах, серед яких цукровий буряк, цукрова тростина та цукрове сорго. На підприємствах із виготовлення цукру та крохмалю утворюються відходи, що містять крохмаль. Завдяки високому вмісту клітковини такі відходи використовують для виготовлення паперу та пакувальних матеріалів. Проте для синтезу мікробних ПАР можуть також застосовуватися тверді відходи та стічні води, які містять вуглеводи. У результаті перероблення картоплі, яка є важливою культурою у багатьох країнах світу, залишаються стічні води, відбраковані плоди, картопляне лушпиння, що можуть бути живильним середовищем для вирощування мікроорганізмів. Вважають, що лише 59% врожаю картоплі переробляється на продукти, а решта — це крохмалевмісні відходи, які важко утилізувати [8, 10].

Fox і Bala використовували картопляні відходи для синтезу ПАР *B. subtilis* ATCC 21332 [100]. Було проведено порівняння росту, поверхнево-активних властивостей та споживання вуглеводів штамом ATCC 21332 на щільному й рідкому середовищах на основі картопляних відходів, а також на середовищі з чистим крохмалем та мінеральними солями. У процесі культивування на середовищі з картопляними відходами синтезувалися ПАР, здатні знижувати поверхневий натяг води до 28,3 мН/м [100]. У своїй подальшій роботі [101] автори досліджували можливість використання живильних середовищ на основі картоплі з високим та низьким вмістом нерозчинних речовин для

вирощування *B. subtilis* ATCC 21332. Частину середовищ додатково збагачували мінеральними речовинами і факторами росту. Встановлено, що штам ATCC 21332 здатний до росту та синтезу сурфактину на досліджуваних середовищах без внесення додаткових ростових факторів [101].

Штам *B. subtilis* LB5a було відібрано як найбільш активний продуцент ПАР на живильному середовищі зі стічними водами після перероблення коріння маніоки (рослина розповсюджена у Південній Америці) [102, 103]. У подальшій роботі Nitschke і Pastore встановили здатність *B. subtilis* LB5a синтезувати ліпопептиди у концентрації 3,0 г/л, причому поверхневий натяг культуральної рідини знижувався до 26,6 мН/м [104]. Синтезовані ПАР зберігали свої властивості за підвищеної температури (100 °C), солоності (20% NaCl), у широкому діапазоні рН, а також характеризувалися здатністю до утворення стабільних емульсій із низкою вуглеводнів [104]. Barros і співавт. описали синтез ПАР *B. subtilis* LB5a на стічних водах після перероблення маніоки у пілотному біореакторі (40 л), обладнаному пристроєм для збирання піни у процесі ферментації [105]. Автори зазначають, що вже на 12-й год культивування концентрація сурфактину в піні становила 2,7 г/л і поступово підвищувалася до 36-ї год культивування, у цей час фіксували максимальну концентрацію ПАР — 3,2 г/л. Згодом концентрація ПАР у піні знижувалась і на 60-ту год становила 1,5 г/л. За період культивування *B. subtilis* LB5a у ферментері було зібрано 10,6 л піни, з якої виділили 25,7 г сурфактину [105].

Було досліджено здатність двох штамів *B. subtilis* (DM-03 та DM-04) синтезувати ПАР на середовищах, у які додавали як субстрат порошкоподібне лушпиння картоплі [106]. Спочатку лушпиння витримували в гарячій воді, після чого висушували у печі. Висушене лушпиння перетирали до пастоподібної консистенції і зберігали за температури 4 °C. Встановлено, що досліджувані мікроорганізми синтезували ПАР ліпопептидної природи на середовищі з даними відходами, проте більш продуктивним виявився штам DM-03. Так, вихід ПАР за глибинного та поверхневого культивування *B. subtilis* DM-03 становив 80,0 і 67,0 мг/г спожитого субстрату відповідно [106].

Отже, описані роботи показують можливість використання як субстратів для біосинтезу ПАР мікробного походження відходів, що містять крохмаль. Завдяки високому вмісту в такій сировині вуглеводів, азоту,

мікроелементів тощо нема потреби у приготуванні складних багатокомпонентних живильних середовищ. Основними проблемами, які слід вирішувати, коли йдеться про синтез ПАР на крохмалевмісних відходах, є низький вихід цільового продукту порівняно, наприклад, з олієвмісними відходами, а також пошук штамів-продуцентів, здатних до гідролізу крохмалю.

Біосинтез ПАР на гліцеролі — побічному продукті виробництва біодизеля

З кожним роком потреби у біопаливі зростають, оскільки вичерпуються запаси нафти та природного газу. Вважають, що в 2017 р. виробництво біодизеля становитиме близько 25 млрд. л. При цьому існує нагальна потреба утилізації гліцеролу — побічного продукту, що утворюється під час виробництва біодизеля (близько 10% від об'єму біопалива) [107]. Відомо, що гліцерол може бути використаний як субстрат у біотехнологічній промисловості, зокрема для синтезу мікробного протеїну [108], лимонної кислоти [108, 109], 1,3-пропандіолу [108, 110, 111], пропіонової кислоти [112], етанолу [113, 114], біополімерів [115], жирних кислот [108, 109], а також ПАР [114, 116, 117, 118].

У табл. 2 наведено дані щодо утворення ПАР на гліцеролі. Слід зазначити, що концентрація ПАР, синтезованих мікроорганізмами на гліцеролі, зазвичай нижча, ніж на традиційних гідрофобних субстратах. Так, *Pseudozyma antarctica* JCM 10317^T синтезував 3,5 г/л ПАР за культивування у живильному середовищі з 10% гліцеролу [117]. Вищу концентрацію рамнолідів (8 г/л) спостерігали за вирощування на гліцеролі (3%) *Pseudomonas aeruginosa* UCP0992 [116].

У роботі [119] показано, що *Pseudomonas aeruginosa* MSIC02 синтезував максимальну

кількість рамнолідів на гідролізованому гліцеролі (18 г/л). За використання мінеральних і рослинних олій як субстратів для емульгування ПАР характеризувалися високими емульгувальними властивостями (значення індексу емульгування — 65%).

Таким чином, гліцерол, об'єми утворення якого дедалі зростають, є безперечно одним із найбільш доступних та дешевих субстратів для біосинтезу ПАР. Однак у більшості робіт використовують очищений гліцерол, а не побічний продукт виробництва біодизеля — технічний гліцерол, що містить у своєму складі метанол, етанол, хлориди натрію або калію тощо. Встановлено здатність *Ustilago maydis* до синтезу гліколіпідів на неочищеному (технічному) гліцеролі. Максимального виходу ПАР (32,1 г/л) вдалося досягти у живильному середовищі, що містило 50 г/л гліцеролу та 20,3 мг/л цитрату амонію як джерело вуглецю і азоту відповідно [123]. Проте в цьому разі в живильне середовище додатково вносили амінокислоти, вітаміни групи В, а також попередники гліколіпідних ПАР. Ще одним суттєвим недоліком, виявленим у ході дослідження, було те, що метанол у концентрації понад 2% пригнічував ріст клітин продуцента і, як наслідок, біосинтез ПАР. Відомо, що будь-які додаткові процеси очищення технічного гліцеролу суттєво впливають на його ціну, а отже й собівартість синтезованих на ньому ПАР. Так, вартість очищеного (харчового) гліцеролу перевищує у 2,5 рази вартість вихідного технічного субстрату. З урахуванням цього актуальним є пошук мікроорганізмів, здатних до утворення ПАР саме на технічному гліцеролі та стійких до наявних у його складі токсичних домішок.

Наші дослідження показали, що за умов росту штамів *A. calcoaceticus* IMB B-7241, *R. erythropolis* IMB Ac-5017 та *N. vaccinii* IMB B-7405 на технічному гліцеролі, одержаному

Таблиця 2. Гліцерол як субстрат для синтезу ПАР

Штам	Концентрація гліцеролу	Концентрація ПАР, г/л	Посилання
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3%	15,4	[120]
<i>Pseudozyma antarctica</i> JCM 10317	10%	3,5	[117]
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> DAUPE 614	3%	12,18	[121]
<i>Bacillus circulans</i>	2%	2,9	[122]
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> UCP0992	3%	8	[116]
<i>Ustilago maydis</i>	50 г/л	32,1	[123]
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> MSIC02	18 г/л	1,27	[119]

безпосередньо від заводу-виробника біодизеля (Запорізький біопаливний завод) концентрація синтезованих позаклітинних ПАР була удвічі вищою, ніж на очищеному субстраті (рис. 2). При цьому вміст технічного гліцеролу в середовищі не перевищував 2% (об'ємна частка). Разом з тим, беручи до уваги обсяги виробництва біодизеля у світі — 11 млн. т у 2008 р. зі щорічним наступним збільшенням на 8–10% [124], а також кількість утворюваного як відходу технічного гліцеролу — 10% від об'єму біодизеля [125], можна стверджувати, що для ефективного використання такого відходу як субстрату у біотехнологічних процесах його вміст у середовищі культивування продуцентів практично цінних мікробних метаболітів має бути якомога вищим.

У процесі подальшої роботи було встановлено, що збільшення концентрації инокуляту до 10–15% і підвищення у два рази (порівняно з базовим середовищем) вмісту джерела азотного живлення дає змогу реалізувати процес синтезу ПАР штамами ІМВ Ас-5017, ІМВ В-7241 і ІМВ В-7405 на середовищі, що містить 7–8% (об'ємна частка) технічного гліцеролу. За таких умов культивування концентрація синтезованих дослі-

джуваними штамами позаклітинних ПАР становила 3,4–5,3 г/л, що в 1,4–3 рази вище, ніж на базовому середовищі з аналогічною концентрацією субстрату.

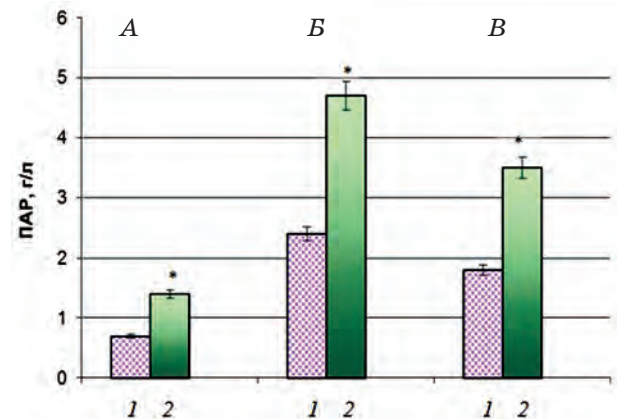


Рис. 2. Синтез ПАР за умов росту штамів ІМВ Ас-5017 (А), ІМВ В-7241 (В), ІМВ В-7405 (В) на очищеному (1 — контроль) і технічному (2) гліцеролі.

Концентрації очищеного і технічного гліцеролу еквімолярні за вуглецем

Таблиця 3. Узагальнена характеристика промислових відходів, використовуваних як субстрати для біосинтезу мікробних ПАР

Промислові відходи	Характеристика відходів як субстратів			
	Технологічність		Економічність	Екологічність
	переваги	недоліки		
Нафтовмісні (відпрацьована моторна олива)	Не потребують стерилізації	Гідрофобні водонерозчинні, містять токсичні домішки	Дешеві та доступні	Екологічно небезпечні та потребують утилізації
Олієвімісні (пересмажені олії, відходи виробництва рослинних олій)	Не потребують попередньої обробки, містять необхідні поживні речовини	Гідрофобні водонерозчинні	Дешеві й доступні в дуже великих кількостях	Пересмажені олії екологічно небезпечні, викиди їх у навколишнє середовище в Україні не регламентуються
Відходи молочної (сироватка) та цукрової (меляса) промисловості	Гідрофільні	Молочна сироватка асимілюється обмеженим колом мікроорганізмів, потребує попередньої обробки	Відносно дешеві й доступні у великих кількостях	Викиди у навколишнє середовище великої кількості молочної сироватки можуть спричинити порушення екологічної рівноваги
Лігноцелюлозні	Немає	Потребують попереднього гідролізу, негідролізовані можуть бути використані лише для твердофазного культивування продуцентів з відповідною гідролізою активністю	Відновлювана сировина, постійно доступна у великих кількостях	Екологічно безпечні
Крохмалевмісні	Містять необхідні поживні речовини	Невисокі показники синтезу ПАР, використання продуцентів з амілолітичною активністю	Відносно дешеві й доступні у великих кількостях	Відносно екологічно безпечні
Технічний гліцерол	Гідрофільний, не потребує стерилізації	Містить токсичні домішки, часто потребує попереднього очищення	Дешевий і доступний у дуже великих кількостях	Екологічно небезпечний і потребує утилізації

Отже, зважаючи на об'єми продажу, різноманіття галузей застосування та екологічну безпечність мікробні поверхнево-активні речовини користуються постійним попитом, тому важливим є впровадження дешевих технологій їх виробництва. З другого боку, актуальною проблемою залишається пошук економічно вигідних способів утилізації відходів. Використання промислових відходів для отримання ПАР мікробного походження дасть змогу не лише вирішити проблему накопичення вторинної сировини, а й зменшити витрати на біосинтез практично цін-

них метаболітів. Нині мікробні ПАР, одержувані з відновлюваної сировини, поступово виходять на світовий ринок, а можливість перероблення промислових відходів на поверхнево-активні речовини цікавляться вчені всього світу. З огляду на це дослідження, спрямовані на вивчення закономірностей синтезу мікробних ПАР на відходах різних галузей промисловості, є актуальними та перспективними. Узагальнену інформацію про переваги та недоліки використовуваних для біосинтезу мікробних ПАР промислових відходів наведено у табл. 3.

REFERENCES

1. Müller M. M., Kügler J. H., Henkel M., Gerlitzki M., Hörmann B., Pöhnlein M., Syldatk C., Hausmann R. Rhamnolipids — Next generation surfactants? *J. Biotechnol.* 2012, 162(4), 366–380.
2. Mulligan C. N. Recent advances in the environmental applications of biosurfactants. *Cur. Opin. Coll. Inter. Sci.* 2009, 14(5), 372–378.
3. Banat I., Franzetti A., Gandolfi I., Bestetti G., Martinotti M., Fracchia L., Smyth T., Marchant R. Microbial biosurfactants production, applications and future potential. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2010, 87(2), 427–444.
4. Nitschke M., Costa S. G., Contiero J. Rhamnolipids and PHAs: Recent reports on *Pseudomonas*-derived molecules of increasing industrial interest. *Proc. Biochem.* 2011, 46(3), 621–630.
5. Henkel M., Müller M. M., Kügler J. H., Lovaglio R. B., Contiero J., Syldatk C., Hausmann R. Rhamnolipids as biosurfactants from renewable resources: Concepts for next-generation rhamnolipid production. *Proc. Biochem.* 2012, 47(8), 1207–1219.
6. Syldatk C., Hausmann R. Microbial biosurfactants. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 2010, 112(6), 615–616.
7. Costa S. G., Nitschke M., Lépine F., Déziel E., Contiero J. Structure, properties and applications of rhamnolipids produced by *Pseudomonas aeruginosa* L2-1 from cassava wastewater. *Proc. Biochem.* 2010, 45(9), 1511–1516.
8. Makkar R. S., Cameotra S. S., Banat I. M. Advances in utilization of renewable substrates for biosurfactant production. *AMB Express.* 2011, 1:5. doi: 10.1186/2191-0855-1-5.
9. Van Bogaert I. N. A., Zhang J., Soetaert W. Microbial synthesis of sophorolipids. *Proc. Biochem.* 2011, 46(4), 821–833.
10. Octave S., Thomas D. Biorefinery: Toward an industrial metabolism. *Biochimie.* 2009, 91(6), 659–664.
11. Lomascolo A., Uzan-Boukhris E., Sigoillot J.-C., Fine F. Rapeseed and sunflower meal: a review on biotechnology status and challenges. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2012, 95(5), 1105–1114.
12. Willke T., Vorlop K. D. Industrial bioconversion of renewable resources as an alternative to conventional chemistry. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2004, 66(2), 132–142.
13. Makkar R. S., Cameotra S. S. An update on the use of unconventional substrates for biosurfactant production and their new applications. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2002, 58(4), 428–434.
14. Thavasi R., Jayalakshmi S., Balasubramanian T., Banat I. M. Biosurfactant production by *Corynebacterium kutscheri* from waste motor lubricant oil and peanut oil cake. *Lett. Appl. Microbiol.* 2007, 45(6), 686–691.
15. Shumkova E. S., Solyanikova I. P., Plotnikova E. G., Golovleva L. A. Phenol degradation by *Rhodococcus opacus* strain 1G. *Prikladnaia biokhimiia i mikrobiologiya.* 2009, 45(1), 43–49. (In Russian).
16. Homenko L. A., Nogina T. M., Pidgors'kij V. S. The ability of strains of *Rhodococcus erythropolis* utilization of mineral motor oils and their resistance to certain stressors. *Naukovi zapysky. Biologiya ta ekologiya.* 2005, 43, 38–42. (In Ukrainian).
17. Adav S. S., Chen M. Y., Lee D. J., Ren N. Q. Degradation of phenol by *Acinetobacter* strain isolated from aerobic granules. *Chemosphere.* 2007, 67(8), 1566–1572.
18. Cao B., Nagarajan K., Loh K. Biodegradation of aromatic compounds: current status and opportunities for biomolecular approaches. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2009, 85(2), P. 207–228.
19. Ren H. S., Wang Y., Zhao H. B., Cai B. L. Isolation and identification of phenol-degrading strains and the application in biotreatment of phenol-containing wastewater. *Huan Jing Ke Xue.* 2008, 29(2), P. 482–487.
20. Wang Y., Tian Y., Han B., Zhao H. B., Bi J. N., Cai B. L. Biodegradation of phenol by free and immobilized *Acinetobacter* sp. strain PD12. *J. Environ. Sci.* 2007, 19(2), 222–225.

21. Rocha L. L., de Aguiar Cordeiro A. R., Cavalcante R. M., do Nascimento R. F., Martins S. C., Santaella S. T., Melo V. M. Isolation and characterization of phenol degrading yeasts from an oil refinery wastewater in Brazil. *Mycopathologia*. 2007, 164(4), 183–188.
22. Li X., Li A., Liu C., Yang J., Ma F., Hou N., Xu Y., Ren N. Characterization of the extracellular biodemulsifier of *Bacillus mojavensis* XH1 and the enhancement of demulsifying efficiency by optimization of the production medium composition. *Proc. Biochem.* 2012, 47(4), 626–634.
23. Dumont M. J., Narine S. S. Soapstock and deodorizer distillates from North American vegetable oils: Review on their characterization, extraction and utilization. *Food Res. International*. 2007, 40(8), 957–974.
24. Oliveira F. J. S., Vazquez L., de Campos N. P., de França F. P. Production of rhamnolipids by a *Pseudomonas alcaligenes* strain. *Proc. Biochem.* 2009, 44(4), 383–389.
25. Mercade M. E., Manresa M. A., Robert M., Espuny M. J., de Andres C., Guinea J. Olive oil mill effluent (OOME). New substrate for biosurfactant production. *Bioresour. Technol.* 1993, 43(1), 1–6.
26. Kitamoto D., Yanagishita H., Shinbo T., Nakane T., Kamisawa C., Nakahara T. Surface active properties and antimicrobial activities of mannosylerythritol lipids as biosurfactants produced by *Candida antarctica*. *J. Biotechnol.* 1993, 29(1), 91–96.
27. Casas J., Garcia-Ochoa F. Sophorolipid production by *Candida bombicola* medium composition and culture methods. *J. Biosci. Bioeng.* 1999, 88(5), 488–494.
28. Rau U., Hammen S., Heckmann R., Wray V., Lang S. Sophorolipids: a source for novel compounds. *Ind. Crops Prod.* 2001, 13(2), 85–92.
29. Vollbrecht E., Rau U., Lang S. Microbial conversion of vegetable oils into surface-active di-, tri-, and tetrasaccharide lipids (biosurfactants) by the bacterial strain *Tsukamurella* spec. *Lipid/Fett*. 1999, 101(10), 389–394.
30. Trummler K., Effenberger F., Syldatk C. An integrated microbial/enzymatic process for production of rhamnolipids and L-(+)-rhamnose from rapeseed oil with *Pseudomonas* sp. DSM 2874. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 2003, 105(10), 563–571.
31. Thaniyavarn J., Chongchin A., Wanitsuksombut N., Thaniyavarn S., Pinphanichakarn P., Leepipatpiboon N., Morikawa M., Kanaya S. Biosurfactant production by *Pseudomonas aeruginosa* A41 using palm oil as carbon source. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 2006, 52(4), 215–222.
32. Pornsunthorntawe O., Arttaweeporn N., Paisanjit S., Somboonthanate P., Abe M., Rujiravanit R., Chavadej S. Isolation and comparison of biosurfactants produced by *Bacillus subtilis* PT2 and *Pseudomonas aeruginosa* SP4 for microbial surfactant-enhanced oil recovery. *Biochem. Eng. J.* 2008, 42(2), 172–179.
33. Abouseoud M., Maachi R., Amrane A., Boudergua S., Nabi A. Evaluation of different carbon and nitrogen sources in production of biosurfactant by *Pseudomonas fluorescens*. *Desalination*. 2008, 223(1–3), 143–151.
34. Monteiro A. S., Coutinho J. O., Júnior A. C., Rosa C. A., Siqueira E. P., Santos V. L. Characterization of new biosurfactant produced by *Trichosporon montevidense* CLOA 72 isolated from dairy industry effluents. *J. Basic. Microbiol.* 2009, 49(6), 553–563.
35. Daverey A., Pakshirajan K. Production, characterization, and properties of sophorolipids from the yeast *Candida bombicola* using a low-cost fermentative medium. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2009, 158(3), 663–674.
36. Daverey A., Pakshirajan K. Kinetics of growth and enhanced sophorolipids production by *Candida bombicola* using a low-cost fermentative medium. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2010, 160(7), 2090–2101.
37. Müller M., Hörmann B., Syldatk C., Hausmann R. *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 as a model for rhamnolipid production in bioreactor systems. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2010, 87(1), 167–174.
38. Abalos A., Pinazo A., Infante M. R., Casals M., García F., Manresa A. Physicochemical and antimicrobial properties of new rhamnolipids produced by *Pseudomonas aeruginosa* AT10 from soybean oil refinery wastes. *Langmuir*. 2001, 17(5), 1367–1371.
39. Benincasa M., Contiero J., Manresa M. A., Moraes I. O. Rhamnolipid production by *Pseudomonas aeruginosa* LBI growing on soapstock as the sole carbon source. *J. Food Eng.* 2002, 54(4), 283–288.
40. Nitschke M., Costa S. G., Haddad R., Goncalves L. A., Eberlin M. N., Contiero J. Oil wastes as unconventional substrates for rhamnolipid biosurfactant production by *Pseudomonas aeruginosa* LBI. *Biotechnol. Prog.* 2005, 21(5), 1562–1566.
41. Nitschke M., Costa S. G., Contiero J. Structure and applications of a rhamnolipid surfactant produced in soybean oil waste. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2010, 160(7), 2066–2074.
42. Deak N., Johnson L. Functional properties of protein ingredients prepared from high-sucrose/low-stachyose soybeans. *J. Am. Oil Chem. Soc. (JAOCS)*. 2006, 83(9), 811–818.
43. Solaiman D. K., Ashby R. D., Nuñez A., Foglia T. A. Production of sophorolipids by *Candida bombicola* grown on soy molasses as substrate. *Biotechnol. Lett.* 2004, 26(15), 1241–1245.
44. Solaiman D., Ashby R., Zerkowski J., Foglia T. Simplified soy molasses-based medium for reduced-cost production of sophorolipids by

- Candida bombicola*. *Biotechnol. Lett.* 2007, 29(9), 1341–1347.
45. Thavasi R., Jayalakshmi S., Balasubramanian T., Banat I. Production and characterization of a glycolipid biosurfactant from *Bacillus megaterium* using economically cheaper sources. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2008, 24(7), 917–925.
 46. Thavasi R., Jayalakshmi S., Banat I. M. Application of biosurfactant produced from peanut oil cake by *Lactobacillus delbrueckii* in biodegradation of crude oil. *Bioresour. Technol.* 2011, 102(3), 3366–3372.
 47. Jadhav M., Kagalkar A., Jadhav S., Govindwar S. Isolation, characterization, and antifungal application of a biosurfactant produced by *Enterobacter* sp. MS16. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 2011, 113(11), 1347–1356.
 48. Shah V., Jurjevic M., Badia D. Utilization of restaurant waste oil as a precursor for sophorolipid production. *Biotechnol. Prog.* 2007, 23(2), 512–515
 49. Liu J., Peng K., Huang X., Lu L., Cheng H., Yang D., Zhou Q., Deng H. Application of waste frying oils in the biosynthesis of biodemulsifier by a demulsifying strain *Alcaligenes* sp. S-XJ-1. *J. Environ. Sci. (China)*. 2011, 23(6), 1020–1026.
 50. Xia W. J., Luo Z. B., Dong H. P., Yu L., Cui Q. F., Bi Y. Q. Synthesis, characterization, and oil recovery application of biosurfactant produced by indigenous *Pseudomonas aeruginosa* WJ-1 using waste vegetable oils. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2012, 166(5), 1148–1166.
 51. Zhang Q., Saleh A. S., Chen J., Shen Q. Chemical alterations taken place during deep-fat frying based on certain reaction products: A review. *Chem. Phys. Lipids*. 2012, 165(6), 662–681.
 52. Haba E., Espuny M. J., Busquets M., Manresa A. Screening and production of rhamnolipids *Pseudomonas aeruginosa* 47T2 NCIB 40044 from waste frying oils. *J. Appl. Microbiol.* 2000, 88(3), 379–387.
 53. Raza Z. A., Khan M. S., Khalid M. Z., Rehman A. Production kinetics and tensioactive characteristics of biosurfactant from a *Pseudomonas aeruginosa* mutant grown on waste frying oils. *Biotechnol. Lett.* 2006, 28(20), 1623–1631.
 54. Zhu Y., Gan J., Zhang G., Yao B., Zhu W., Meng Q. Reuse of waste frying oil for production of rhamnolipids using *Pseudomonas aeruginosa* zju. u1M. *J. Zhejiang Univ. Sci. A*. 2007, 8(9), 1514–1520.
 55. Sadouk Z., Hacene H., Tazerouti A. Biosurfactants production from low cost substrate and degradation of diesel oil by a *Rhodococcus* strain. *Oil Gas Sci. Technol.* 2008, 63(6), 747–753.
 56. De Lima C., Ribeiro E., Sêrvulo E., Resende M., Cardoso V. Biosurfactant production by *Pseudomonas aeruginosa* grown in residual soybean oil. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2009, 152(1), 156–168.
 57. Liu J., Huang X. F., Lu L. J., Xu J. C., Wen Y., Yang D. H., Zhou Q. Comparison between waste frying oil and paraffin as carbon source in the production of biodemulsifier by *Dietzia* sp. S-JS-1. *Bioresour. Technol.* 2009, 100(24), 6481–6487.
 58. Wadekar S. D., Kale S. B., Lali A. M., Bhowmick D. N., Pratap A. P. Microbial synthesis of rhamnolipids by *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 10145) on waste frying oil as low cost carbon source. *Prep. Biochem. Biotechnol.* 2012, 42(4), 249–266.
 59. Pirog T. P., Shevchuk T. A., Voloshina I. N., Grechirchak N. N. Use of claydite-immobilized oil-oxidizing microbial cells for purification of water from oil. *Appl. Biochem. Microbiol.* 2005, 41(1), 51–55.
 60. Pirog T. P., Antonyuk S. I., Karpenko Ye. V., Shevchuk T. A. The influence of conditions of *Acinetobacter calcoaceticus* K-4 strain cultivation on surface-active substances synthesis. *Appl. Biochem. Microbiol.* 2009, 45(3), 272–278.
 61. Pirog T. P., Gricenko N. A., Homjak D. I., Konon A. D., Antonyuk S. I. Optimization of synthesis of biosurfactants of *Nocardia vaccinii* K-8 under bioconversion of biodiesel production waste. *Mikrobiol. zh.* 2011, 73(4), 15–23. (In Russian).
 62. Pirog T. P., Ignatenko S. V. Scaling of the process of biosynthesis of surfactants by *Rhodococcus erythropolis* EK-1 on hexadecane. *Appl. Biochem. Microbiol.* 2011, 47(4), 393–399.
 63. Pidgors'kij V. S., Iutins'ka G. O., Pirog T. P. Intensification of technologies microbial synthesis. *Kyiv: Nauk. dumka*. 2010, 327 p.
 64. Zulfiqar A. R., Muhammad S. K., Zafar M. K., Asma R. Production kinetics tensioactive characteristics of biosurfactant from a *Pseudomonas aeruginosa* mutant grown on waste frying oils. *Biotechnol. Lett.* 2006, 28(20), 1623–1631.
 65. Cha M., Lee N., Kim M., Kim M., Lee S. Heterologous production of *Pseudomonas aeruginosa* EMS1 biosurfactant in *Pseudomonas putida*. *Bioresour. Technol.* 2008, 99(7), 2192–2199.
 66. Abbasi H., Hamedi M. M., Lotfabad T. B., Zahiri H. S., Sharafi H., Masoomi F., Moosavi-Movahedi A. A., Ortiz A., Amanlou M., Noghabi K. A. Biosurfactant-producing bacterium, *Pseudomonas aeruginosa* MA01 isolated from spoiled apples: physicochemical structural characteristics of isolated biosurfactant. *J. Biosci. Bioeng.* 2012, 113(2), 211–219.
 67. Sanket J., Chirag B., Sujata J., Sanjay Y., Anuradha N., Desai Anjana J. Biosurfactant production using molasses whey under thermophilic conditions. *Bioresour. Technol.* 2008, 99(1), 195–199.
 68. Daniel H. J., Otto R. T., Reuss M., Syldatk C. Sophorolipid production with high yields on whey concentrate rapeseed oil without consumption of lactose. *Biotechnol. Lett.* 1998, 20(8), 805–807.

69. Daniel H. J., Reuss M., Syldath C. Production of sophorolipids in high concentration from deproteinized whey rapeseed oil in a two stage fed batch process using *Candida bombicola* ATCC 22214 and *Cryptococcus curvatus* ATCC 20509. *Biotechnol. Lett.* 1998, 20(12), 1153–1156.
70. Daverey A., Pakshirajan K. Sophorolipids from *Candida bombicola* using mixed hydrophilic substrates: Production, purification and characterization. *Colloids Surf. B. Biointerfaces.* 2010, 79(1), 246–253.
71. Dubey K., Juwarkar A. Distillery and curd whey wastes as viable alternative sources for biosurfactant production. *J. Microbiol. Biotechnol.* 2001, 17(1), 61–69.
72. Rodrigues L. R., Teixeira J. A., Oliveira R. Low-cost fermentative medium for biosurfactant production by probiotic bacteria. *Biochemical. Eng. J.* 2006, 32(3), 135–142.
73. Dubey K. V., Charde P. N., Meshram S. U., Shendre L. P., Dubey V. S., Juwarkar A. A. Surface-active potential of biosurfactants produced in curd whey by *Pseudomonas aeruginosa* strain-PP2 and *Kocuriaturfanesis* strain-Jatextreme environmental conditions. *Bioresour. Technol.* 2012, V. 126, P. 368–374. doi: 10.1016/j.biortech.2012.05.024.
74. Maneerat S. Biosurfactants from marine microorganisms. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 2005, 27(6), 1263–1272.
75. Maneerat S. Production of biosurfactants using substrates from renewable resources. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 2005, 27(3), 675–683.
76. Ghurye G. L., Vipulanandan C., Willson R. C. A practical approach to biosurfactant production using nonaseptic fermentation of mixed cultures. *Biotechnol. Bioeng.* 1994, 44(5), 661–666.
77. Makkar R. S., Cameotra S. S. Utilization of molasses for biosurfactant production by two *Bacillus* strains at thermophilic conditions. *J. Am. Oil Chem. Soc. (JACOS).* 1997, 74(7), 887–889.
78. Patel R., Desai A. Surface-active properties of rhamnolipids from *Pseudomonas aeruginosa* GS3. *J. Basic Microbiol.* 1997, 37(4), 281–286.
79. Rashedi H., Assadi M. M., Bonakdarpour B., Jamshidi E. Environmental importance of rhamnolipid production from molasses as a carbon source. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 2005, 2(1), 59–62.
80. Raza Z. A., Khan M. S., Khalid Z. M. Physicochemical and surface-active properties of biosurfactant produced using molasses by a *Pseudomonas aeruginosa* mutant. *J. Environ. Sci. Health A Tox. Hazard. Subst. Environ. Eng.* 2007, 42(1), 73–80.
81. Muthusamy K., Gopalakrishnan S., Ravi T. K., Sivachidambaram P. Biosurfactants: properties, commercial production and application. *Curr. Sci.* 2008, 94(6), 736–747.
82. Abdel-Mawgoud A. M., Aboulwafa M. M., Hassouna N. A. Characterization of surfactin produced by *Bacillus subtilis* isolate BS5. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2008, 150(3), 289–303.
83. Abdel-Mawgoud A. M., Aboulwafa M. M., Hassouna N. A. Optimization of surfactin production by *Bacillus subtilis* isolate BS5. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2008, 150(3), 305–325.
84. Onbasli D., Aslim B. Biosurfactant production in sugar beet molasses by some *Pseudomonas* spp. *J. Environ. Biol.* 2009, 30(1), 161–163.
85. Al-Bahry S. N., Al-Wahaibi Y. M., Elshafie A. E., Al-Bemani A. S., Joshi S. J., Al-Makhmari H. S., Al-Sulaimani H. S. Biosurfactant production by *Bacillus subtilis* B20 using date molasses and its possible application in enhanced oil recovery. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 2013, V. 81, P. 141–146.
86. Saimmai A., Rukadee O., Onlamool T., Sobhon V., Maneerat S. Characterization and phylogenetic analysis of microbial surface active compound-producing bacteria. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2012, 168(5), 1003–1018.
87. Lin C.-W., Wu C.-H., Tran D.-T., Shih M.-C., Li W.-H., Wu C.-F. Mixed culture fermentation from lignocellulosic materials using thermophilic lignocellulose-degrading anaerobes. *Proc. Biochem.* 2011, 46(2), 489–493.
88. Chandel A. K., Singh O. V. Weedy lignocellulosic feedstock and microbial metabolic engineering: advancing the generation of “Biofuel”. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2011, 89(5), 1289–1303.
89. Abdel-Rahman M. A., Tashiro Y., Sonomoto K. Lactic acid production from lignocellulose-derived sugars using lactic acid bacteria: overview and limits. *J. Biotechnol.* 2011, 156(4), 286–301.
90. Taherzadeh M. J., Karimi K. Acid-based hydrolysis processes for ethanol from lignocellulosic materials: A review. *BioRes.* 2007, 2(3), 472–499.
91. Moldes A. B., Alonso J. L., Parajo J. C. Strategies to improve the bioconversion of processed wood into lactic acid by simultaneous saccharification and fermentation. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 2001, 76(3), 279–284.
92. Bustos G., Moldes A. B., Cruz J. M., Domínguez J. M. Production of lactic acid from vine-trimming wastes and viticulture lees using a simultaneous saccharification fermentation method. *J. Sci. Food Agricul.* 2005, 85(3), 466–472.
93. Sreenath H. K., Moldes A. B., Koegel R. G., Strub R. J. Lactic acid production from agriculture residues. *Biotechnol. Lett.* 2001, 23(1), 179–184.
94. Rodrigues L. R., Teixeira J. A., vanderMei H. C., Oliveira R. Physicochemical and functional characterization of a biosurfactant produced by *Lactococcus lactis* 53. *Colloids Surf. B Biointerfaces.* 2006, 49(1), 79–86.

95. Portilla-Rivera O. M., Moldes A. B., Torrado A. M., Domínguez J. M. Biosurfactants from grape marc: Stability study. *J. Biotechnol.* 2007, 131(2) (Suppl). doi:10.1016/j.jbiotec.2007.07.837.
96. Portilla-Rivera O. M., Moldes A. B., Torrado A. M., Domínguez J. M. Lactic acid and biosurfactants production from hydrolyzed distilled grape marc. *Proc. Biochem.* 2007, 42(6), 1010–1020.
97. Portilla-Rivera O., Torrado A., Domínguez J. M., Moldes A. B. Stability and emulsifying capacity of biosurfactants obtained from lignocellulosic sources using *Lactobacillus pentosus*. *J. Agric. Food Chem.* 2008, 56(17), 8074–8080.
98. Portilla-Rivera O. M., Rivas B., Torrado A., Moldes A. B., Domínguez J. M. Revalorisation of vine trimming wastes using *Lactobacillus acidophilus* and *Debaryomyces hansenii*. *J. Sci. Food Agric.* 2008, 88(13), 2298–2308.
99. Slivinski C. T., Mallmann E., de Araújo J. M., Mitchell D. A., Krieger N. Production of surfactin by *Bacillus pumilus* UFPEDA 448 in solid-state fermentation using a medium based on okara with sugarcane bagasse as a bulking agent. *Proc. Biochem.* 2012, 47(12), 1848–1856.
100. Fox S. L., Bala G. A. Production of surfactant from *Bacillus subtilis* ATCC 21332 using potato substrates. *Bioresour. Technol.* 2000, 75(3), 235–240.
101. Thompson D. N., Fox S. L., Bala G. A. Biosurfactants from potato process effluents. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2000, 84–86(1–9), 917–930.
102. Nitschke M., Pastore G. Cassava flour wastewater as a substrate for biosurfactant production. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2003, 106(1–3), 295–302.
103. Nitschke M., Pastore G. M. Biosurfactant production by *Bacillus subtilis* using cassava-processing effluent. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2004, 112(3), 163–172.
104. Nitschke M., Pastore G. M. Production and properties of a surfactant obtained from *Bacillus subtilis* grown on cassava wastewater. *Bioresour. Technol.* 2006, 97(2), 336–341.
105. Barros F., Ponezi A., Pastore G. Production of biosurfactant by *Bacillus subtilis* LB5a on a pilot scale using cassava wastewater as substrate. *J. Microbiol. Biotechnol.* 2008, 35(9), 1071–1078.
106. 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. *Proc. Biochem.* 2007, 42(8), 1191–1199.
107. Rivaldi J. D., Sarrouh B. F., Branco R. F., de Mancilha I. M., da Silva S. S. Biotechnological utilization of biodiesel-derived glycerol for the production of ribonucleotides and microbial biomass. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2012, 167(7), 2054–2067.
108. Papanikolaou S., Fakas S., Fick M., Chevalot I., Galiotou-Panayotou M., Komaitis M., Marc I., Aggelis G. Biotechnological valorisation of raw glycerol discharged after bio-diesel (fatty acid methyl esters) manufacturing process: Production of 1,3-propanediol, citric acid and single cell oil. *Biomass Bioenergy.* 2008, 32(1), 60–71.
109. Makri A., Fakas S., Aggelis G. Metabolic activities of biotechnological interest in *Yarrowia lipolytica* grown on glycerol in repeated batch cultures. *Bioresour. Technol.* 2010, 101(7), 2351–2358.
110. Asad-ur-Rehman, Saman W. R. G., Nomura N., Sato S., Matsumura M. Pre-treatment and utilization of raw glycerol from sunflower oil biodiesel for growth and 1,3-propanediol production by *Clostridium butyricum*. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 2008, 83(7), 1072–1080.
111. Moon C., Ahn J., Kim S. W., Sang B., Um Y. Effect of biodiesel-derived raw glycerol on 1,3-propanediol production by different microorganisms. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2010, 161(1–8), 502–510.
112. Zhang A., Yang S. T. Propionic acid production from glycerol by metabolically engineered *Propionibacterium acidipropionici*. *Proc. Biochem.* 2009, 44(12), 1346–1351.
113. Yu K. O., Kim S. W., Han S. O. Reduction of glycerol production to improve ethanol yield in an engineered *Saccharomyces cerevisiae* using glycerol as a substrate. *J. Bacteriol.* 2010, 150(2), 209–214.
114. Da Silva G. P., Mack M., Contiero J. Glycerol: a promising and abundant carbon source for industrial microbiology. *Biotechnol. Adv.* 2009, 27(1), 30–39.
115. Cavalheiro J. M. B. T., de Almeida M. C. M. D., Grandfils C., da Fonseca M. M. R. Poly(3-hydroxybutyrate) production by *Cupriavidus necator* using waste glycerol. *Proc. Biochem.* 2009, 44(5), 509–515.
116. Silva S. N., Farias C. B., Rufino R. D., Luna J. M., Sarubbo L. A. Glycerol as substrate for the production of biosurfactant by *Pseudomonas aeruginosa* UCP0992. *Colloids Surf. B. Biointerfaces.* 2010, 79(1), 174–183.
117. Morita T., Konishi M., Fukuoka T., Imura T., Kitamoto D. Microbial conversion of glycerol into glycolipid biosurfactants, mannosylerythritol lipids, by a basidiomycete yeast, *Pseudozyma antarctica* JCM 10317(T). *J. Biosci. Bioeng.* 2007, 104(1), 78–81.
118. Yazdani S. S., Gonzalez R. Anaerobic fermentation of glycerol: a path to economic viability for the biofuels industry. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2007, 18(3), 213–219.

119. DeSousa J. R., Correia J. A., deAlmeida J. G. L., Rodrigues S., Pessoa O. D. L., Melo V. M. M., Gonçalves L. R. B. Evaluation of a co-product of biodiesel production as carbon source in the production of biosurfactant by *P. aeruginosa* MSIC02. *Proc. Biochem.* 2011, 46(9), 1831–1839.
120. Zhang G. L., Wu Y. T., Qian X. P., Meng Q. Biodegradation of crude oil by *Pseudomonas aeruginosa* in the presence of rhamnolipids. *J. Zhejiang Univ. Sci.* 2005, 6(8), 725–730.
121. Monteiro S. A., Sasaki G. L., de Souza L. M., Meira J. A., de Araújo J. M., Mitchell D. A., Ramos L. P., Krieger N. Molecular and structural characterization of the biosurfactant produced by *Pseudomonas aeruginosa* DAUPE 614. *Chem. Phys. Lipids.* 2007, 147(1), 1–13.
122. Das P., Mukherjee S., Sen R. Substrate dependent production of extracellular biosurfactant by a marine bacterium. *Bioresour. Technol.* 2009, 100(2), 1015–1019.
123. Liu Y., Koh C. M. J., Ji L. Bioconversion of crude glycerol to glycolipids in *Ustilago maydis*. *Bioresour Technol.* 2011, 102(4), 3927–3933.
124. Posada J. A., Cardona C. A., Gonzalez R. Analysis of the production process of optically pure D-lactic acid from raw glycerol using engineered *Escherichia coli* strains. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2012, 166(3), P. 680–699.
125. Louhasakul Y., Cheirsilp B. Industrial waste utilization for low-cost production of raw material oil through microbial fermentation. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2013, 169(1), 110–122.

БИОСИНТЕЗ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ НА ПРОМЫШЛЕННЫХ ОТХОДАХ

Т. П. Пирог, А. П. Софилканич,
А. Д. Конон, Н. А. Гриценко

Национальный университет
пищевых технологий, Киев, Украина

E-mail: tapirog@nuft.edu.ua

Представлены данные литературы и собственных экспериментов о синтезе микробных поверхностно-активных веществ различной химической природы (рамнолипидов, софоролипидов, манозилэритритоллипидов, липопептидов) на отходах (масло-жировой, сахарной, молочной промышленности, сельского и лесного хозяйства, производства биодизеля, а также на отработанных — пережаренных растительных маслах). Наиболее подходящими субстратами для синтеза микробных поверхностно-активных веществ являются маслосодержащие отходы, которые, в отличие от, например, лигноцеллюлозных, молочной сыворотки, технического глицерола, не требуют предварительной обработки или очистки.

Замена традиционных субстратов для биосинтеза поверхностно-активных веществ отходами промышленных производств позволит снизить себестоимость технологии в несколько раз, а также утилизировать ненужные отходы, снять с предприятий пищевой промышленности, сельскохозяйственного сектора и предприятий, вырабатывающих биодизель, проблему хранения или обезвреживания значительной массы отходов, на что расходуется огромное количество энергии и средств.

Ключевые слова: микробные поверхностно-активные вещества, промышленные отходы.

BIOSYNTHESIS OF SURFACTANTS ON INDUSTRIAL WASTE

T. P. Pirog, A. P. Sofilkanich,
A. D. Konon, N. A. Grytsenko

National University of Food Technologies, Kyiv,
Ukraine

E-mail: tapirog@nuft.edu.ua

The literature and own experimental data on the synthesis of microbial surfactants of different chemical nature (rhamnolipids, sophorolipids, manozylerythritollipids, lipopeptides) at various waste (vegetable oil and fat, sugar, dairy industry, agriculture, forestry, biodiesel, as well as waste — fried vegetable oils) are presented. Most suitable substrates for the synthesis of microbial surfactants are oil containing waste that, unlike, for example, lignocellulose, whey, technical glycerol do not require pre-treatment and purification.

Replacing traditional substrates for the biosynthesis of surfactant with industrial waste will help to reduce the cost of technology by several times, dispose of unwanted waste, solve the problem of storage or disposal of large amounts of waste from the food industry, agricultural sector and companies that produce biodiesel, which spent large amount of energy and money for such needs.

Key words: microbial surfactants, industrial waste.