

doi: <https://doi.org/10.15407/microbiolj81.06.110>

УДК 579.663

### ІНТЕГРОВАНІ ТЕХНОЛОГІЇ МІКРОБНОГО СИНТЕЗУ КІЛЬКОХ ЦІЛЬОВИХ ПРОДУКТІВ

**Т.П. Пирог<sup>1,2</sup>, Л.В. Ключка<sup>1</sup>, Н.О. Клименко<sup>1</sup>,  
Т.А.Шевчук<sup>2</sup>, Г.О. Іутинська<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Національний університет харчових технологій,  
вул. Володимирська, 68, Київ, 01601, Україна

<sup>2</sup>Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України,  
вул. Академіка Заболотного, 154, Київ 03143, Україна  
e-mail: [tapirog@nuft.edu.ua](mailto:tapirog@nuft.edu.ua)

Останніми роками підвищується інтерес дослідників до технологій мікробного синтезу цільових продуктів мультифункціонального призначення, зокрема – полігідроксиалканоатів і поверхнево-активних речовин. Проте їх промислове виробництво стримується високими витратами на процес біосинтезу. Одним з підходів до вирішення цієї проблеми є реалізація так званих інтегрованих біотехнологій, в яких одночасно з цільовим синтезуються практично цінні супутні метаболіти, висока ринкова вартість яких дає змогу компенсувати витрати на одержання цільового продукту. В огляді підсумовано дані літератури щодо одночасного мікробного синтезу полігідроксиалканоатів, поверхнево-активних речовин, пігментів, ферментів, органічних кислот, екзополісахаридів, аміно- і поліамінокислот, фітогормонів, бактеріоцинів. Сфери застосування синтезованих одним продуцентом комплексу практично важливих метаболітів з різноманітними властивостями є значно ширшими, ніж монопрепаратів. Різна локалізація кількох метаболітів (внутрішньо- та позаклітинні), синтезованих на дешевих і наявних у великій кількості промислових відходах, дає можливість реалізації високоєфективних безвідходних біотехнологій.

*Ключові слова:* одночасний синтез кількох продуктів, цільовий метаболіт, супутній продукт, мікробні технології.

На сучасному етапі на зміну класичним монобіотехнологіям, основним постулатом яких є «один продуцент–один вуглецевий субстрат–один цільовий продукт», приходять так звані «інтегровані біотехнології» (один продуцент–один або кілька вуглецевих субстратів–кілька цільових продуктів) [1–20]. Ефективність таких технологій очевидна. По-перше, в результаті реалізації одного технологічного процесу замість кількох; по-друге, за рахунок того, що сфери застосування цільового продукту, що містить комплекс метаболітів з різними властивостями, є набагато ширшим порівняно з монопрепаратами.

Упродовж останніх років у літературі з'явилася інформація про одночасний синтез мікроорганізмами комплексу різних за механізмом дії ферментів [6–8, 18], полігідроксиалканоатів і органічних кислот [11], кількох антимікробних сполук [9], бактеріоцину разом з органічною кислотою

[10], фітогормонів з речовинами, які проявляють високу антимікробну активність [12–17]. Особливої уваги заслуговують інтегровані технології, один з цільових продуктів яких сам по собі є метаболітом широкого спектру призначення, наприклад, ферменти лакази і екзополісахариди [2], полігідроксиалканоати [11], поверхнево-активні речовини (ПАР) [3, 4, 9, 19, 20].

**Мета** даного огляду – узагальнення наявних у літературі даних про здатність мікроорганізмів одночасно синтезувати кілька практично важливих метаболітів.

При викладенні матеріалу ми будемо використовувати терміни «цільовий» та «супутній» продукт (метаболіт). Поділ продуктів біосинтезу на цільові та супутні залежить від їх концентрації. Якщо кількість продукту є порівняною з концентраціями, синтезованими відомими продуцентами, його будемо класифікувати як цільовий.

### **Синтез полігідроксиалканоатів з іншими метаболітами**

Упродовж останнього десятиліття полігідроксиалканоати (ПГА) завдяки термопластичним властивостям і біодеградабельності привернули увагу дослідників як альтернатива штучному пластику [21–23], проте їх виробництво стримується високою вартістю середовищ для культивування продуцентів. Можливим рішенням цієї проблеми може стати використання субстратів різноманітних відходів [21–24]. Крім того, одночасний біосинтез з полігідроксиалканоатами інших перспективних для практичного використання супутніх продуктів дасть змогу підвищити ефективність технологій одержання ПГА [21–24]. Активними продуцентами полігідроксиалканоатів вважаються мікроорганізми, здатні накопичувати у біомасі понад 40 % (навіть до 80%) ПГА [22].

**Пігменти.** Штам *Paracoccus* sp. LL1 [25] за умов росту на мінеральному середовищі з 2% очищеного гліцерину синтезує одночасно ПГА і збагачені астаксантином каротиноїди. Через 120 год вміст полігідроксиалканоатів у біомасі становив 39,3% (9,52 г/л), а концентрація каротиноїдів – 7,14 мг/л. У процесі культивування штаму LL1 на глюкозі кількість синтезованих каротиноїдів була значно нижчою (0,82 мг/л). Автори роботи [25] зазначають, що висока вартість каротиноїдів (цінного на ринку продукту мікробного синтезу) зможе компенсувати затрати на виробництво полігідроксиалканоатів.

Жовто-пігментований штам *Cupriavidus* sp. USMAHM13 під час вирощування на суміші гліцеринвмісних відходів нафтохімічної промисловості (5 г/л) і 1,4-бутандіолу (5 г/л) синтезує полігідроксибутирати у концентрації 6 г/л (49 % від біомаси) і жовтий пігмент, який за хімічною природою є новою сполукою серед каротиноїдів [26]. Ця технологія є перспективною, оскільки дає змогу утилізувати небезпечні відходи нафтохімічної промисловості, які раніше спалювали, в результаті чого утворювався токсичний акролеїн.

**Інші полімери.** Мікроорганізми-продуценти полігідроксиалканоатів можуть синтезувати як супутні метаболіти й інші полімери, зокрема – поліглутамінову кислоту [27, 28],  $\epsilon$ -полілізін [29], екзополісахариди (ЕПС) [30, 31].

У 2016 році опубліковано роботу [27], в якій встановлено здатність штамів *Cupriavidus necator* IPT 026, *C. necator* IPT 027, *C. necator* IPT 029 і *Bacillus megaterium* INCQS 425 утворювати полігідроксиалканоати і поліглутамінову кислоту. Поліглутамінова кислота завдяки нетоксичності і біосумісності з іншими речовинами може бути використана як кріопротектор, матеріал для контрольованого вивільнення лікарської речовини, а також як хірургічний клей, оскільки не викликає алергії і сприяє швидкому загоєнню ран.

Штами *C. necator* IPT 026, *C. necator* IPT 027, *C. necator* IPT 029 і *B. megaterium* INCQS 425 вирощували упродовж 72 год на середовищі з 2 % сахарози або технічного гліцерину. Найвищі показники синтезу (концентрація ПГА 0,78 г/л, а поліглутамінової кислоти 1,90 г/л) спостерігали за умов росту *B. megaterium* INCQS 425 на відходах виробництва біодизелю [27].

Роком пізніше з'явилася інформація [28] про здатність генно-інженерного штаму *Bacillus subtilis* ОК2 утворювати під час культивування у середовищі з глюкозою (20 г/л) і глутаміновою кислотою (32 г/л) полігідроксибутирати (1 г/л) і поліглутамінову кислоту (0,4 г/л).

*Bacillus licheniformis* PL26 у процесі культивування на середовищі з технічним гліцериним синтезував одночасно з полігідроксиалканоатами  $\epsilon$ -полілізін [29]. Полілізін застосовують у харчовій промисловості як консервант і емульгатор, у медицині – як підсилювач протипухлинної дії лікарських засобів, у складі гелів він зв'язує і виводить ендотоксини з організму. Крім того, завдяки антимікробним властивостям цей полімер може бути використаний у складі дезінфектантів, у нанотехнологіях його використовують для покриття наночіпів [32]. Через 96 год вирощування *B. licheniformis* PL26 концентрація  $\epsilon$ -полілізіну в культуральній рідині становила 0,2 г/л, а вміст полігідроксиалканоатів в біомасі досягав 64,6% [29].

В оглядах [23, 24] зазначається, що інформація про здатність мікроорганізмів одночасно синтезувати ПГА і екзополісахариди з'явилася ще у другій половині 90-років ХХ ст. Проте синтезувальна здатність продуцентів (*Azotobacter beijerinckii* WDN-01, *Anabaena cylindrica* 10 С, *Azotobacter chroococcum* 6В) була невисокою: концентрація ЕПС становила від 0,3 до 1,5 г/л, а полігідроксиалканоатів – 0,01–2,73 г/л. У 2007 р. Wang і Yu [30] повідомили, що у процесі культивування на глюкозі *Ralstonia eutropha* ATCC 17699 утворює ПГА у достатньо високій концентрації (12 г/л) і ЕПС у незначній кількості (0,13 г/л).

У 2017 році опубліковано роботу [31], в якій показано, що під час вирощування на очищеному гліцерині (2 %) *Pseudomonas corrugate* CFBP 5454 синтезував полігідроалканоати (0,92 г/л або 32% від сухої біомаси) і альгінат як супутній метаболіт (0,39 г/л).

Значимо, що концентрація ЕПС, синтезованих одночасно з полігідроксиалканоатами як основним продуктом, є невисокою, і тому такі біотехнології навряд чи є перспективними без спроби підвищення ЕПС-синтезувальної здатності продуцентів ПГА.

**Органічні кислоти.** Амінолевулінова кислота (АЛК) використовується у діагностиці ракових утворень [33]. АЛК одержують переважно хімічним синтезом, проте низький вихід, складність технології і висока

собівартість зумовили інтерес до мікробного синтезу, перевагами якого є екологічність, економічність, а також відносно високі концентрації цієї кислоти [34].

У роботі [35] повідомляється про здатність генно-інженерного штаму *Escherichia coli* LTT19PHB+ALA+ одночасно утворювати як полігідроксибутират, так і амінолевулінову кислоту. За умов росту на середовищі з глюкозою, гліцином і сукцинатом цей штам синтезував 1,76 г/л полігідроксибутирату, що становить 43,1% від сухої біомаси, а також 1,6 г/л АЛК.

У 2018 році [36] одержано рекомбінантний штам *E. coli* DALA-103, який за умов росту на глюкозі (40 г/л) одночасно з полігідроксиалканоатами (38,2 % від біомаси) синтезував амінолевулінову кислоту у значно вищій концентрації (3,2 г/л).

Генно-інженерний штам *E. coli* QZ1112 у процесі культивування на середовищі з глюкозою (45 г/л) синтезував позаклітинний сукцинат (24,6 г/л) і полігідроксибутират (4,95 г/л, що становить 43,1 % від сухої біомаси) [37]. У роботі [11] показано, що штам *E. coli* KNSP1, вдосконалений метаболічною інженерією, за умов росту на суміші гліцерину і деканоату утворював 21,07 г/л сукцинату і 0,54 г/л полігідроксиалканоатів (5,62 % від сухої біомаси). Оскільки концентрація ПГА у даному разі є високою, його навряд чи можна вважати основним продуктом.

**Ферменти.** У 2012–2013 рр. з'явилася інформація [38, 39] про штам *Bacillus* sp. CFR-67, який одночасно синтезував полі-3-гідроксибутират-3-гідроксивалеріат (ПГБВ) і фермент  $\alpha$ -амілазу.

У роботі [38] встановлено, що у процесі вирошування штаму CFR-67 на середовищі з гідролізованим кукурудзяним крохмалем (50 г/л) концентрація ПГБВ становила 5,9 г/л (59% від сухої біомаси), а активність  $\alpha$ -амілази – 40 од/мл. У наступних дослідженнях [39] для культивування *Bacillus* sp. CFR-67 використовували крім кукурудзяного крохмалю також інші субстрати (картопляний крохмаль, крохмаль з тапіоки, сахарозу і глюкозу). Встановлено, що найвищі показники синтезу ПГБВ (0,44–0,48 г/л) і амілази (активність 40,6–62,4 од/мл) спостерігали за умов росту штаму CFR-67 на глюкозі і сахарозі.

Узагальнені дані про утворення мікроорганізмами полігідроксиалканоатів з іншими продуктами наведено у табл. 1. Ці дані свідчать про те, що за умов росту як на традиційних субстратах, так і на промислових відходах продуценти ПГА здатні синтезувати такі супутні метаболіти як каротиноїди, органічні кислоти, ферменти, а також ряд інших полімерів.

### Утворення екзополісахаридів і супутніх метаболітів

Мікроорганізми розглядаються як перспективні продуценти, якщо концентрація синтезованих полісахаридів перевищує 10 г/л [40].

У роботі [41] вперше встановлено здатність штаму *Sphingomonas sanxanigenens* NX02 синтезувати екзополісахарид сфінган разом з полігідроксибутиратами. Після 72 год культивування на середовищі з глюкозою (40 г/л) відсоток полігідроксибутирату (ПГБ) у біомасі становив 63,27%, а концентрація ЕПС у культуральній рідині – 14,88 г/л. Зазначимо, що у даному разі важко визначити належність цих продуктів мікробного синтезу до основних чи супутніх метаболітів, оскільки кожен з них утворюється

Таблиця 1

## Мікробний синтез полігидроксиалканواتів та інших промислово важливих метаболітів

| Штам-продуцент                         | Джерело вуглецю   | Концентрація ПАГ                    | Сунутний метаболіт                  | Концентрація сунутних метаболітів         | Література |
|--|---|-------------------------------------|-------------------------------------|---|------------|
| <i>Rapidosuccis</i> sp. LL1            | Очищений гліцерин   | 9,52 г/л                            | Збагачені астаксантином каротиноїди | 7,14 мг/л                                 | [25]       |
| <i>Cupriavidus</i> sp. USMAN13         | Суміш гліцеринвмісних відходів нафтохімічної промисловості і 1,4-бутандіолу | 6 г/л                               | Жовтий пігмент (каротиноїд)         | –   | [26]       |
| <i>Cupriavidus necator</i> IPT 026     | Сахароза<br>Технічний гліцерин  | 0,12 г/л<br>0,28 г/л                | Поліглутамінова кислота             | 0,47 г/л<br>1,93 г/л                      | [27]       |
| <i>Cupriavidus necator</i> IPT 027     | Сахароза<br>Технічний гліцерин  | 0,14 г/л<br>0,33 г/л                | Поліглутамінова кислота             | –<br>0,05 г/л                             | [27]       |
| <i>Cupriavidus necator</i> IPT 029     | Сахароза<br>Технічний гліцерин  | 0,09 г/л<br>0,16 г/л                | Поліглутамінова кислота             | 0,06 г/л<br>1,69 г/л                      | [27]       |
| <i>Bacillus megaterium</i> INCQS 425   | Сахароза<br>Технічний гліцерин  | 0,25 г/л<br>0,78 г/л                | Поліглутамінова кислота             | 0,56 г/л<br>1,90 г/л                      | [27]       |
| <i>Bacillus subtilis</i> OK2           | Глюкоза + глутамінова кислота   | 1,0 г/л                             | Поліглутамінова кислота             | 0,4 г/л                                   | [28]       |
| <i>Bacillus licheniformis</i> PL26     | Технічний гліцерин  | Вміст у біомасі 64,6%               | ε-полілізін                         | 0,2 г/л                                   | [29]       |
| <i>Pseudomonas corrugate</i> CFBR 5454 | Очищений гліцерин   | 0,92 г/л                            | Альгінат                            | 0,39 г/л                                  | [31]       |
| <i>Escherichia coli</i> LT119PHV+ALA+  | Глюкоза + гліцин + сукцинат   | Вміст у біомасі 43,1%               | Амінолевулінова кислота             | 1,6 г/л                                   | [35]       |
| <i>Escherichia coli</i> DALA-103       | Глюкоза   | Вміст у біомасі 38,2%               | Амінолевулінова кислота             | 3,2 г/л                                   | [36]       |
| <i>Escherichia coli</i> QZ1112         | Глюкоза   | 4,95 г/л<br>(вміст у біомасі 41,3%) | Сукцинат                            | 24,6 г/л                                  | [37]       |
| <i>Bacillus</i> sp. CFR-67             | Кукурудзяний крохмаль   | 5,9 г/л (вміст у біомасі 59%)       | Альфа-амілаза                       | 40 од/мл*                                 | [38]       |
| <i>Bacillus</i> sp. CFR-67             | Крохмаль з тапіоки<br>глюкоза<br>сахароза                                   | 0,390 г/л<br>0,444 г/л<br>0,480 г/л | Альфа-амілаза                       | 35,0 од/мл*<br>62,4 од/мл*<br>40,6 од/мл* | [39]       |

Примітка: – дані не наведено; \* - активність ферменту;

у достатньо високих концентраціях. Тому дана технологія заслуговує особливої уваги, оскільки штам *S. sanxanigenens* NX02 є перспективним продуцентом як ЕПС, так і полігідроксibuтирату.

У 2017 році Licciardello із співавт. [31] встановили, що під час вирощування на очищеному гліцерині (2 %) *Pseudomonas mediterranea* CFBR 5447 синтезував полісахарид альгінат у концентрації 6,93 г/л і полігідроксисалканати (0,52 г/л) як супутні метаболіти.

Одним з широко відомих екзополісахаридів є леван [42], проте проблемою промислового його виробництва є контамінація сторонньою мікробіотою. Як варіант вирішення цієї проблеми у роботі [42] пропонується використання як продуцента ЕПС галофільного штаму *Halomonas smyrnensis* AAD6, який на середовищі з сахарозою (50 г/л) і 137,2 г/л морської солі синтезує ПГБ і леван. За таких умов концентрація ЕПС становила 15,3 г/л, а вміст полігідроксibuтирату в біомасі досягав 45,8%. Автори роботи [42] зазначають, що морська сіль є недешевим компонентом поживного середовища для *H. smyrnensis* AAD6, але підтримання асептичних умов упродовж культивування і можливість одержання в одному технологічному процесі високих концентрацій двох практично важливих цільових продуктів, один з яких є екзо-, а другий – ендогенним метаболітом, повністю компенсують високу вартість середовища.

*Sinorhizobium meliloti* MTCC 100 під час вирощування у середовищі з гідролізованими рисовими висівками одночасно синтезує ПГА (3,6 г/л) і екзополісахарид (11,8 г/л) [43].

У статті [44] повідомляється про здатність молочнокислих бактерій *Lactobacillus kefiranofaciens* JCM 6985 до одночасного синтезу молочної кислоти і ЕПС кефірану, якому притаманні антимікробні і протипухлинні властивості. У процесі культивування *L. kefiranofaciens* JCM 6985 на середовищі з молочною сироваткою концентрація кефірану і молочної кислоти становила 2,5 і 135 г/л відповідно.

Зазначимо, що на відміну від інших продуцентів ЕПС [31, 40–42], молочнокислі бактерії синтезують ЕПС у нижчій в кілька разів концентрації. Проте інтерес до молочнокислих бактерій як продуцентів ЕПС зумовлений тим, що синтезовані ними екзополісахариди є безпечними для здоров'я людини і застосовуються в харчовій промисловості для надання необхідних органолептичних показників і привабливого вигляду кисло-молочним продуктам (сметана, йогурт, тощо).

Отже, на теперішній час є небагато інформації про одночасний синтез мікроорганізмами екзополісахаридів та інших метаболітів, а наявні повідомлення стосуються переважно біосинтезу ЕПС та полігідроксисалканатів (табл. 2).

#### **Одночасний синтез надсинтетиками амінокислот інших важливих сполук**

Амінокислоти (АК) є первинними метаболітами, біосинтез яких контролюється на двох рівнях: синтезу і активності ферментів [45]. Тому досягти надсинтезу амінокислот можна тільки у разі використання ауксотрофних та/або регуляторних мутантів з порушеною системою регуляції, або генно-інженерних штамів [45]. Мікроорганізми вважаються високоактивними продуцентами амінокислот, якщо концентрація синтезованої АК перевищує 10 г/л.

Біосинтез екзополісахаридів і амінокислот з іншими метаболітами

| Мікроорганізм-продуцент                                     | Джерело вуглецю              | Основний продукт | Концентрація основного продукту, г/л | Супутній метаболіт                              | Концентрація супутнього метаболіту | Література |
|---|------------------------------|------------------|--------------------------------------|---|------------------------------------|------------|
| <i>Halomonas sturgensis</i> AAD6                            | Сахароза                     | ЕПС леван        | 15,3                                 | Полігідроксибутират                             | 45,8%*                             | [42]       |
| <i>Lactobacillus kefirifaciens</i> JCM 6985                 | Молочна сироватка            | ЕПС кефіран      | 2,5                                  | Молочна кислота                                 | 135 г/л                            | [44]       |
| <i>Sphingomonas sanxanigenens</i> NX02                      | Глюкоза                      | ЕПС сфінган Ss   | 14,88                                | Полігідроксибутират                             | 63,27%*                            | [41]       |
| <i>Pseudomonas mediterranea</i> CFBR 5447                   | Очищений гліцерин            | ЕПС альгінат     | 6,93                                 | Полігідрокеналканоати                           | 0,52 г/л                           | [31]       |
| <i>Sinorhizobium meliloti</i> MTCC 100                      | Гідролізовані рисові висівки | Екзополісахарид  | 11,8                                 | Полігідрокеналканоати                           | 3,6 г/л                            | [43]       |
| <i>Corynebacterium glutamicum</i> WM001                     | Глюкоза                      | L-ізолейцин      | 29,8                                 | Полігідроксибутират-3-гідроксивалеріат          | 15,0 г/л                           | [48]       |
| <i>Corynebacterium crenatum</i> SYPA 5                      | Глюкоза                      | L-аргінін        | 41,1                                 | Полігідроксибутират                             | 15,7%*                             | [49]       |
| <i>Escherichia coli</i> GPT2000                             | Глюкоза+ ксилітоза           | L-триптофан      | 14,4                                 | Полігідроксибутират                             | 9,7%*                              | [50]       |
| <i>Corynebacterium glutamicum</i> 9114                      | Глюкоза                      | L-глутамат       | 17,2                                 | Полігідроксибутират                             | 12,1%*                             | [46]       |
| <i>Corynebacterium glutamicum</i> ATCC14067                 | Глюкоза                      | L-глутамат       | 30,0                                 | L-глутамін<br>Молочна кислота<br>2-Оксоглутарат | 10,5 г/л<br>5,0 г/л<br>3,5 г/л     | [46]       |
| <i>Corynebacterium glutamicum</i>                           | Глюкоза                      | L-глутамат       | 18,0                                 | Полігідроксибутират                             | 7,0 г/л                            | [47]       |
| <i>Corynebacterium glutamicum</i> IWJ001/<br>pDXW-8-mek-ygb | Глюкоза                      | L-ізолейцин      | 13,8                                 | S-аденозил-L-метіонін                           | 0,67 г/л                           | [51]       |

Примітка. \* - вміст полігідрокеналканоатів у біомасі.

Наявна на теперішній час інформація стосується в основному одночасного синтезу представниками родів *Corynebacterium* і *Escherichia* амінокислот з полігідроксиалканоатами [46–50]. Перші повідомлення про здатність корінебактерій утворювати L-глутамат як основний і ПГА як супутні метаболіти з'явилися у 2007 [46] і 2009 рр. [47]. Рекombінантний штам *Corynebacterium glutamicum* 9114 у процесі культивування в колбах на качалці у середовищі з глюкозою синтезував 17,23 г/л L-глутамату і накопичував у біомасі 12,1% полігідроксибутирату [46]. Інший генно-інженерний штам *C. glutamicum* ATCC14067 за таких самих умов вирощування утворював цю амінокислоту у вищій концентрації (28,3 г/л), у той час як вміст ПГБ у біомасі не перевищував 2,2 % [46]. Культивування штаму ATCC14067 у ферментаторі з постійним підживленням глюкозою для підтримання концентрації цього субстрату на рівні 10 г/л супроводжувалося підвищенням синтезу L-глутамату до 37 г/л, проте супутніми метаболітами у цьому разі були органічні кислоти (2-оксоглутарат і молочна кислота у концентрації 3,5 і 5 г/л відповідно), а також L-глутамін (10,5 г/л) [46].

Ю із співавт. [47] встановили, що здатність рекombінантного штаму *C. glutamicum* (номер штаму у роботі не вказано) синтезувати L-глутамат і полігідроксибутират залежить від концентрації біотину у середовищі культивування. Упродовж 72 год (перша стадія) штам культивували у глюкозовмісному середовищі з 3 мкг/л біотину, після чого його концентрацію підвищували до 9 мкг/л і додатково вносили 60 г/л глюкози (друга стадія). На першій стадії штам синтезував L-глутамат (18 г/л), на другій – полігідроксибутират, вміст якого у біомасі досягав 36 %.

У 2013 році було одержано рекombінантний штам *E. coli* GPT2000, який одночасно синтезує полігідроксибутират і L-триптофан [50]. Цей штам було отримано перенесенням гену, відповідального за біосинтез ПГБ у *Ralstonia eutropha*, у клітини продуцента триптофану *E. coli* GPT1002 [50]. Як джерело вуглецю для культивування штаму GPT2000 використовували суміш ксилози і глюкози з початковою концентрацією 4 і 16 г/л відповідно. У процесі культивування здійснювали дробне внесення обох субстратів до кінцевої концентрації 100 і 400 г/л відповідно. За таких умов культивування рекombінантний штам *E. coli* GPT2000 синтезував 14,4 г/л L-триптофану, а вміст полігідроксибутирату у біомасі становив 9,7%. Проте зазначимо, що ступінь конверсії вуглецю субстратів в обидва цільові продукти був невисоким, а затрати на їх біосинтез та виділення не можуть бути компенсовані за рахунок реалізації цих метаболітів на ринку [50].

У роботі [48] встановлено здатність рекombінантного штаму *C. glutamicum* WM001 синтезувати L-ізолейцин і полі(3-гідроксибутират-3-гідроксивалеріат) (ПГБВ). Штам *C. glutamicum* WM001 вирощували у середовищі з глюкозою (130 г/л) з подальшим дробним внесенням порціями по 72 г/л до кінцевої концентрації 500 г/л. Через 168 год культивування концентрація L-ізолейцину становила 29,8 г/л, а ПГБВ – 15,0 г/л.

Ху із співавт. [49] на основі продуцента L-аргінину *Corynebacterium crenatum* SYPA 5 отримали генно-інженерний штам *C. crenatum* P1, який у процесі культивування на глюкозі синтезував 41,1 г/л амінокислоти і одночасно накопичував у біомасі 15,7% полігідроксибутирату. Зазначимо, що у процесі періодичного культивування *C. crenatum* P1 у фермен-



таторі супутніми метаболітами (крім полігідроксибутирату) були ацетат (2,13 г/л), молочна кислота (2,37 г/л), а також деякі амінокислоти (L-ізолейцин – 2,34 г/л, L-лізин – 4,09 г/л).

У роботі [51] встановлена здатність рекомбінантного штаму *C. glutamicum* IWJ001/pDXW-8-*metk-vgb* одночасно синтезувати L-ізолейцин і S-аденозил-L-метіонін (SAM). Використання SAM у складі лікарських засобів для лікування депресії, шизофренії, гепатиту, остеоартриту зумовлює ріст попиту на цей продукт мікробного синтезу. Оскільки SAM є внутрішньоклітинним, а L-ізолейцин – позаклітинним метаболітом, то технологія, що дає змогу одержати в одному процесі ці два практично цінні продукти є перспективною для впровадження у виробництво. За умов росту на глюкозі штаму IWJ001/pDXW-8-*metk-vgb* на 72 год культивування утворював 13,8 г/л L-ізолейцину і 0,67 г/л S-аденозил-L-метіоніну [51].

Отже, наявні у доступній літературі відомості свідчать про те, що представники роду *Corynebacterium* одночасно з амінокислотами синтезують полігідроксиалканоати і є лише поодинокі повідомлення про здатність надсинтетиків амінокислот утворювати як супутні метаболіти органічні кислоти (див. табл. 2)

### **Біосинтез комплексу поверхнево-активних речовин з іншими метаболітами**

Завдяки комплексу унікальних властивостей поверхнево-активні речовини (ПАР) мікробного походження є препаратами мультифункціонального призначення і можуть бути використані в харчовій, фармацевтичній промисловості, сільському господарстві, медицині та у природоохоронних технологіях [3, 4, 52]. Разом з тим, упродовж останнього десятиліття встановлена здатність мікроорганізмів до синтезу комплексу поверхнево-активних речовин та інших метаболітів, таких як ферменти [19, 20, 53–57], полігідроксиалканоати [4, 24, 58], фітогормони [4, 59, 60], бактеріюцини [61, 62], екзополісахариди [63, 64]. Зазначимо, що автори цих робіт як критерії синтезу ПАР використовували такі показники, як індекс емульгування [19, 55–57] або поверхневий натяг [20, 53] і не визначали концентрацію поверхнево-активних речовин (у г/л), що унеможливило оцінку рівня їх синтезувальної здатності та порівняння з відомими у світі продуцентами.

**Ферменти.** Дані літератури свідчать про те, що продуценти ПАР синтезують протеази і амілази [19, 20], а також ліпази [53–57].

Так, Bhange із співавт. [19] показали, що за умов росту на середовищі з відходами агропромислового комплексу (картопляні очистки, макуха ріпакового насіння, пір'я) *Bacillus subtilis* PF1 синтезував комплекс протеази і амілази з поверхнево-активними речовинами. Після оптимізації складу поживного середовища дослідникам вдалося підвищити протеолітичну активність у 2,3 рази (до 49,14 од/мл), амілолітичну – в 1,2 рази (до 19,3 од/мл), а індекс емульгування – на 17 % (до 43 %).

У роботі [20] встановлено, що *Bacillus methylotrophicus* DCS1 утворює лужну  $\alpha$ -амілазу у комплексі з ПАР ліпопептидної природи. Завдяки широкому спектру застосування (харчова, фармацевтична, текстильна, паперова промисловість) ринок  $\alpha$ -амілази становить близько 25% світового ринку ферментів [65]. Оскільки собівартість ліпопептидних ПАР є

достатньо високою, реалізація інтегрованої біотехнології може суттєво знизити затрати на їх виробництво за рахунок реалізації амілази.

Перші повідомлення про здатність мікроорганізмів одночасно синтезувати ПАР і ліпазу датуються 2010 роком, коли Colla із співавт. [57] встановили, що за умов росту *Aspergillus* sp. O-8 на середовищі з пшеничними висівками ліпазна активність становила 3,79 од/мл, а індекс емульгування – 42,7 %. Лише у 2017 році з'явилася нова інформація про утворення мікроорганізмами поверхнево-активних речовин і ліпази. Так, у роботі [54] показано, що у процесі культивування *Ochrobactrum intermedium* MZV101 на оливковій олії (10 г/л) при 60°C і рН 10 показник  $E_{24}$  досягав 46 %, у той час як ліпазна активність була невисокою (4,19 од/мл). Подальші дослідження [55] з інтенсифікації синтезу обох метаболітів дали змогу підвищити індекс емульгування до 86,23 %, а активність ліпази – до 14,53 од/мл. Таких показників вдалося досягти введенням у базове середовище з оливковою олією 1 г/л меляси та підвищенням рН середовища до 11.

У 2018 році з'явилася інформація [56] про здатність *Burkholderia* sp. O19 до синтезу під час культивування на оливковій олії поверхнево-активних речовин і ліпази (12,4 од/мл). У цьому ж році Ну із співавт. [53] встановили, що *Serratia* sp. ZS6 на середовищі з оливковою олією синтезує ліпопептид сераветин і ліпазу, причому рівень синтезу ферменту був суттєво вищим (45 од/мл), ніж встановлений у роботах [54, 56, 57].

Узагальнені дані щодо біосинтезу комплексу ферментів і поверхнево-активних речовин наведено у табл. 3. Ці дані свідчать про перспективність таких біотехнологій, проте на теперішній час потрібні додаткові дослідження, які б дали змогу, по-перше, оцінити рівень синтезу ПАР і визначити конкретні сфери їх практичного застосування, по-друге, розробити шляхи інтенсифікації біосинтезу як поверхнево-активних речовин, так і ферментів.

**Пігменти.** У 2016 році було опубліковано роботу [66], в якій китайські вчені повідомили, що *Serratia surfactantfaciens* YD25 синтезує комплекс речовин з антимікробною активністю, ідентифікованих як сераветин W (поверхнево-активний ліпопептид) і продигіозин (червоний пігмент, якому притаманні також протипухлинні та імуносупресорні властивості). Роком пізніше, у роботі [67] встановлено повну послідовність геному штаму *S. surfactantfaciens* YD25 (КСТС 42987). Автори зазначають, що подібні дослідження необхідні для розуміння унікальних регуляторних механізмів, що лежать в основі біосинтезу цих двох біологічно активних речовин, які стануть основою для розробки біотехнологій їх одержання.

**Полігідроксиалканоати.** Ще в першій половині 2000-х років з'явилася інформація про синтез різними штамми *Pseudomonas aeruginosa* рамноліпідів (позаклітинні метаболіти) і ПГА (внутрішньоклітинні метаболіти) [68–70]. Проте рівень синтезу як ПАР, так і полігідроксиалканоатів був невисоким (табл. 4), а як субстрати використовували вуглеводні (гексадекан [68], деканоат [69]) або глюкозу [70]. У 2008–2009 рр. було встановлено здатність представників роду *Pseudomonas* одночасно синтезувати рамноліпіди і полігідроксиалканоати на олієвмісних субстратах, у тому числі й на відпрацьованій (пересмаженій) олії [71, 72]. Зазначимо, що за синтезувальною здатністю штами, описані у цих роботах, не відрізнялися від досліджених раніше [68–70] (табл. 4), проте можливість синтезу двох

Синтез мікроорганізмами комплексу поверхнево-активних речовин і ферментів

| Мікроорганізм                          | Джерело вуглецю  | ПАР         | Індекс емульгування E <sub>242</sub> , % | Фермент             | Активність, од/мл | Література |
|--|--|-------------|--|---------------------|-------------------|------------|
| <i>Bacillus subtilis</i> PF1           | Картопляні очистки, макуха ріпакового насіння, борошно з пір'я | –           | 43                                       | Протеаза<br>Амілаза | 49,1<br>19,3      | [19]       |
| <i>Bacillus methylotrophicus</i> DCS1  | Картопляний крохмаль   | Ліпопептид* | –  | Лужна α-амілаза     | 6,76              | [20]       |
| <i>Ochrobactrum intermedium</i> MZV101 | Оливкова олія + меляса   | –           | 86,23                                    | Ліпаза              | 14,53             | [55]       |
| <i>Serratia</i> sp. ZS6                | Оливкова олія  | Серветин**  | –  | Ліпаза              | 45,0              | [53]       |
| <i>Burkholderia</i> sp. O19            | Оливкова олія  | –           | 44,7                                     | Ліпаза              | 12,4              | [56]       |
| <i>Aspergillus</i> sp. O-8             | Пшеничні висівки   | –           | 42,7                                     | Ліпаза              | 3,79              | [57]       |

Примітки: – не ідентифіковано; \* - поверхневий натяг 29,6 мН/м; \*\* - поверхневий натяг 30, 5 мН/м.

Мікробний синтез комплексу рамноліпідів з полігідроксикарбонатами

| Штам-продуцент                           | Джерело вуглецю  | Концентрація ПАР, г/л | ПГА (вміст у біомасі, %) | Література |
|--|--|-----------------------|--------------------------|------------|
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145 | Гексадекан   | 0,61                  | 7,5                      | [68]       |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> IFO3924    | Деканоат   | 0,42                  | 55                       | [69]       |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> PAO1       | Глюкоза  | 0,454                 | 0,15 г/л                 | [70]       |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> IFO3924    | Пальмова олія  | 0,43                  | 36                       | [4, 71]    |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> L2-1       | Стічні води після переробки маніюки                    | 0,3                   | 17,6                     | [72]       |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> L2-1       | Стічні води після переробки маніюки + пересмажена олія | 0,6                   | 39                       | [72]       |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> L2-1       | Гліцерин   | 0,248                 | 4,6                      | [72]       |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 7a         | Пересмажена олія                                       | 0,273                 | 50,4                     | [72]       |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> UMTKB-5    | Гліцерин   | 0,05                  | 24                       | [23, 74]   |
| <i>Thermus thermophilus</i> HB8          | Глюкоза (глюконат натрію)                              | 0,2                   | 34,8                     | [24, 73]   |
| <i>Burkholderia thailandensis</i> E264   | Пересмажена соняшникова олія                           | 2,2                   | 60                       | [58]       |

практично цінних продуктів на дешевих доступних субстратах є одним з факторів підвищення ефективності таких біотехнологій. У 2011 році небагаточисельна на той час інформація про одночасний синтез рамноліпідів і ПГА бактеріями роду *Pseudomonas* була наведена в огляді [3].

У 2011 році Pantazaki із співавт. [73] встановили здатність термофільного штаму *Thermus thermophilus* НВ8 до утворення рамноліпідів (0,2 г/л) і ПГА (24,8 % від біомаси). Незважаючи на те, що рівень синтезу обох метаболітів був невисоким і не відрізнявся від такого у штамів *P. aeruginosa*, штам НВ8 має ряд переваг. По-перше, він є непатогенним, на відміну від умовно патогенних штамів *P. aeruginosa*. По-друге, біосинтез рамноліпідів і ПГА можливий в нестерильних умовах, оскільки оптимальною температурою для *T. thermophilus* НВ8 є 75°C.

У 2017 році була опублікована робота [58], в якій повідомляється про штам *Burkholderia thailandensis* E264, який за умов росту на середовищі з пересмаженою соняшниковою олією синтезував рамноліпідів і ПГА у достатньо високій концентрації (2,2 г/л і 60% від біомаси відповідно). Цей штам вигідно відрізняється від інших синтетиків ПАР і ПГА (див. табл. 4) як вищою синтезувальною здатністю, так і можливістю синтезу двох цільових продуктів мультифункціонального призначення на дешевих і наявних у великій кількості промислових відходах.

Аналіз даних, наведених у табл. 4, показав, що для більшості продуцентів, здатних до одночасного синтезу поверхнево-активних рамноліпідів і полігідроксиалканоатів, неможливо визначити, який з двох продуктів є основним, а який – супутнім. Це, насамперед, стосується штамів, які утворюють як рамноліпідів, так і ПГА у невисоких [68, 70–74] і відносно високих концентраціях [49].

**Фітогормони.** У 2015–2016 рр. ми опублікували дві роботи [59, 75], в яких вперше повідомили про здатність продуцентів поверхнево-активних речовин *Rhodococcus erythropolis* ІМВ Ас-5017, *Acinetobacter calcoaceticus* ІМВ В-7241 і *Nocardia vaccinii* ІМВ В-7405 синтезувати фітогормони ауксинової і цитокінінової природи. Тільки після публікації цих робіт з'явилося повідомлення про утворення індоліл-3-оцтової кислоти бактеріями (переважно представниками роду *Rhodococcus*), ізольованими із забруднених вуглеводнями і важкими металами ґрунтів [60]. Проте здатність до синтезу ПАР автори встановлювали за індексом емульгування і зниженням поверхневого натягу, яке виявилось незначним – до 60–65 мН/м (проти 30–35 мН/м у продуцентів ПАР).

Разом з тим зазначимо, що останніми роками з'являється все більше інформації про синтез мікроорганізмами (переважно ризобактеріями) комплексу відмінних від поверхнево-активних речовин метаболітів з антимікробною активністю і фітогормонів. Такі дані були підсумовані нами в огляді [76].

У 2018 році було опубліковано три роботи [77–79], в яких встановлена здатність продуцентів ліпопептидів і рамноліпідів синтезувати фітогормони ауксинової природи. Так, ендofітний штам *Bacillus* sp. Fc11 [77] синтезував ітурин А і сурфактин, які проявляли антимікробну дію на фітопатогенні гриби родів *Fusarium*, *Phytophthora*, *Sclerotium*, *Corynespora*, а також індоліл-3-оцтову кислоту, наявність якої у культуральній рідині була встановлена якісною реакцією з реагентом Салковскі. Автори роботи

[77] не аналізували концентрацію синтезованих ліпопептидів та індоліл-3-оцтової кислоти.

*Bacillus* sp. B19, *Bacillus* sp. P12 і *Bacillus amyloliquefaciens* B14, ізольовані з ґрунту, синтезують комплекс антимікробних сполук (поверхнево-активні ліпопептиди курстакін, сурфактин, ітурин, фенгіцин і антибіотик поліміксин), а також ауксини [78]. Концентрація ауксинів, синтезованих штамами B19 і P12 становила 5,71 і 4,90 мг/л.

Ендофітний штам *Pseudomonas aeruginosa* L10 [79] за умов росту на дизельному паливі (5 г/л) синтезував рамноліпіди, які знижували поверхневий натяг до 29,5 мН/м та індоліл-3-оцтову кислоту у концентрації 27 мкг/л.

Отже, на теперішній час є небагато повідомлень про здатність продуцентів поверхнево-активних речовин синтезувати фітогормони, причому наявні у літературі дані засвідчують синтез продуцентами ПАР тільки ауксинів, здебільшого індоліл-3-оцтової кислоти. Досліджувані нами продуценти поверхнево-активних речовин *A. calcoaceticus* IMB B-7241, *R. erythropolis* IMB Ac-5017 і *N. vaccinii* IMB B-7405 утворюють фітогормони ауксинової, цитокінінової та гіберелінової природи. Подібні відомості на даний час у літературі відсутні.

**Бактеріоцини.** Упродовж 2010–2014 рр. з'явилася інформація про здатність мікроорганізмів одночасно з поверхнево-активними речовинами синтезувати бактеріоцини [61, 62, 80]. Так, у роботі [61] встановлено, що *Lactococcus lactis* СЕСТ-4434 синтезує асоційовані з клітинами поверхнево-активні речовини і бактеріоцини. Оскільки обидва продукти мікробного синтезу є асоційованими з клітинами, дослідники розробили схему виділення тільки ПАР чи бактеріоцину [61].

Baindara із співавт. [80] встановили, що *B. subtilis* SK.DU4 синтезує комплекс бактеріоцинподібного пептиду та ітуриноподібного ліпопептиду з 15 атомами карбону в ацильному ланцюгові. Дослідники показали, що бактеріоциноподібний пептид спричиняв антимікробну дію на *Micrococcus luteus* МТСС106 і *Listeria monocytogenes* МТСС839.

*Lactobacillus casei* MRTL3 синтезує асоційовані з клітинами ПАР гліколіпідної природи і позаклітинні бактеріоцини [62], яким притаманна висока антимікробна активність. У роботах [61, 62] зазначається, що бактеріоцини та ПАР, синтезовані молочнокислими бактеріями, є перспективними для використання у харчовій промисловості як біоконсерванти, альтернативні хімічним аналогам.

**Екзополісахариди.** На теперішній час у доступній літературі нам вдалося знайти всього два повідомлення про одночасний синтез мікроорганізмами поверхнево-активних речовин та екзополісахаридів. Так, у 2012 році [63] з'явилася інформація про штам *Bacillus subtilis* ATCC 6633, який під час вирощування на середовищі, що містило 20 % зневодненої молочної сироватки (вміст лактози 83–85%), синтезував 0,768 г/л ЕПС та 0,20 г/л поверхнево-активних речовин.

У 2014 році [64] Liang із співавт. встановили здатність штаму *Raenibacillus macerans* TKU029 за умов росту на середовищі, що містило 2 % борошна з відходів після оброблення кальмарів та креветок утворювати ЕПС (3,46 г/л) та поверхнево-активні речовини (1,76 г/л) з антимікробною активністю. Автори роботи [65] зазначають, що щорічний вилов

кальмарів та креветок біля берегів Японії та Китаю досягає 10000 т, після переробки яких залишається 100 т відходів, вартість яких становить всього 0,3 долари за 1 кг.

Дані, наведені у роботах [63, 64], свідчать про можливість зниження собівартості ЕПС і ПАР в результаті використання як субстратів дешевих відходів і одночасного синтезу в одному процесі двох цільових продуктів.

• • •

Отже, аналіз даних літератури показав, що багато які мікроорганізми здатні одночасно утворювати кілька практично цінних метаболітів. Найбільша кількість інформації стосується біосинтезу полігідроксиалканоатів і таких супутніх продуктів, як пігменти (каротиноїди), ферменти (альфа-амілаза), органічні кислоти (сукцинат, амінолевуліат) та інші полімери (екзополісахариди, поліамінокислоти). Інтерес до таких інтегрованих біотехнологій одержання ПГА з іншими метаболітами зумовлений двома причинами. По-перше, різна локалізація двох цільових продуктів (полігідроксиалканоати є внутрішньоклітинними метаболітами, супутні – позаклітинними) дає можливість реалізації практично безвідходного виробництва. По-друге, висока вартість супутнього продукту дозволяє компенсувати витрати на синтез полігідроксиалканоатів.

Промислове виробництво мікробних ПАР (так само, як і ПГА) стримується високими витратами на біосинтез. Тому одночасний синтез ПАР з ферментами (протеази, амілази, ліпази), пігментами, полігідроксиалканоатами, фітогормонами, бактеріоцинами і екзополісахаридами дає змогу знизити собівартість не тільки ПАР, а й супутніх метаболітів, а також розширити сфери практичного застосування комплексу мікробних продуктів з різними властивостями.

Особливої уваги заслуговують інтегровані біотехнології, які базуються на використанні як субстратів дешевих і наявних у великій кількості промислових відходів (відходи виробництва біодизелю та агропромислового комплексу, відпрацьована олія, молочна сироватка та ін.) (табл. 1–4). Крім збереження довкілля в результаті утилізації відходів, підвищується і ефективність таких біотехнологій завдяки низькій собівартості кількох цільових продуктів.

## **ИНТЕГРИРОВАННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ МИКРОБНОГО СИНТЕЗА НЕСКОЛЬКИХ ЦЕЛЕВЫХ ПРОДУКТОВ**

***Т.П. Пирог<sup>1,2</sup>, Л.В. Ключка<sup>1</sup>, Н.А. Клименко<sup>1</sup>,  
Т.А. Шевчук<sup>2</sup>, Г.А. Иутинская<sup>2</sup>***

*<sup>1</sup>Национальный университет пищевых технологий,  
ул. Владимирская, 68, Киев, 01601, Украина*

*<sup>2</sup>Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины,  
ул. Академика Заболотного, 154, Киев, 03143, Украина*

### **Резюме**

В последние годы повышается интерес исследователей к технологиям микробного синтеза целевых продуктов мультифункционального назначения, в частности – полигидроксиалканоатов и поверхностно-активных веществ. Однако их промышленное производство сдерживается высокими затратами на процесс биосинтеза. Одним из

подходов к решению этой проблемы является реализация так называемых интегрированных биотехнологий, в которых одновременно с целевым синтезируются практически ценные сопутствующие метаболиты, высокая рыночная стоимость которых позволяет компенсировать затраты на получение целевого продукта. В обзоре приведены данные литературы об одновременном микробном синтезе полигидроксиалканоатов, поверхностно-активных веществ, пигментов, ферментов, органических кислот, экзополисахаридов, amino- и полиаминокислот, фитогормонов, бактериоцинов. Сферы применения синтезированных одним продуцентом комплекса практически важных метаболитов с различными свойствами значительно шире, чем монопрепаратов. Различная локализация нескольких метаболитов (внутри- и внеклеточные), синтезированных на дешевых и доступных в большом количестве промышленных отходах, позволяет реализовать высокоэффективные безотходные биотехнологии.

*Ключевые слова:* одновременный синтез нескольких продуктов, целевой метаболит, сопутствующий продукт, микробные технологии.

## INTEGRATED TECHNOLOGIES OF MICROBIAL SYNTHESIS OF SEVERAL FINAL PRODUCTS

*T.P. Pirog<sup>1,2</sup>, L.V. Kliuchka<sup>1</sup>, N.O. Klymenko<sup>1</sup>,  
T.A. Shevchuk<sup>2</sup>, G.O. Iutyńska<sup>2</sup>*

*<sup>1</sup>National University of Food Technologies,  
68 Volodymyrska Str., Kyiv, 01601, Ukraine*

*<sup>2</sup>Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, NAS of Ukraine,  
154 Akad. Zabolotny Str., Kyiv, 03143, Ukraine*

### Summary

In recent years, the interest of researchers to the technology of microbial synthesis of final multifunctional products, in particular, polyhydroxyalkanoates and surfactants, has increased. However, their industrial production is limited by high costs of the biosynthesis process. One of the approaches to solving this problem is the implementation of so-called integrated biotechnologies, in which simultaneously with the final product, practically valuable metabolites are synthesized, the high market value of which allows reduce the cost of obtaining the final product. The review contains literature data on the simultaneous microbial synthesis of polyhydroxyalkanoates, surfactants, pigments, enzymes, organic acids, exopolysaccharides, amino- and polyaminoacids, phytohormones and bacteriocins. The applications of the complex of practically important metabolites with different properties synthesized by one producer are much wider than monopreparations. Different localization of several metabolites (intracellular and extracellular) synthesized on inexpensive and available in large quantities industrial waste allows to realize of highly efficient waste-free biotechnology.

*Keywords:* simultaneous synthesis of several products, final metabolite, byproduct, microbial technologies.

1. Zeng W, Li W, Shu L, Yi J, Chen G, Liang Z. Non-sterilized fermentative co-production of poly( $\gamma$ -glutamic acid) and fibrinolytic enzyme by a thermophilic *Bacillus subtilis* GXA-28. *Bioresour Technol.* 2013; 142:697–700. doi: 10.1016/j.biortech.2013.05.020.
2. Que Y, Sun S, Xu L, Zhang Y, Zhu H. High-level coproduction, purification and characterization of laccase and exopolysaccharides by *Coriolus versicolor*. *Food Chem.* 2014; 159:208–13. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.03.063.
3. Nitschke M, Costa S, Contiero J. Rhamnolipids and PHAs: Recent reports on *Pseudomonas* – derived molecules of increasing industrial interest. *Process Biochem.* 2011; 46: 621–30. doi:10.1016/j.procbio.2010.12.012.
4. Hori K, Marsudi S, Ichinohe R, Unno H. Simultaneous synthesis of polyhydroxyalkanoates and rhamnolipids by *Pseudomonas aeruginosa* IFO3924 at various temperatures and from various fatty acid. *Biochem Eng J.* 2011; 53(2):196–202. doi:10.1016/j.bej.2010.10.011.
5. Krishnan S, Kaari M, Gautam RK, Singh PK, Sevugapperumal N, Sharma SK. *Bacillus* spp. for suppression of eggplant bacterial with pathogen in Andaman Islands: Isolation and characterization. *Indian J Exp Biol.* 2019; 57:131–37.
6. de Castro AM, Castilho LR, Freire DM. Multivariate optimization and supplementation strategies for the simultaneous production of amylases, cellulases, xylanases, and proteases by *Aspergillus awamori* under solid-state fermentation conditions. *Appl Biochem Biotechnol.* 2015; 175(3):1588–1602. doi: 10.1007/s12010-014-1368-2.
7. Sanchez Blanco A, Palacios Durive O, Batista Perez S, Diaz Guerra N. Simultaneous production of amylases and proteases by *Bacillus subtilis* in brewery wastes. *Braz J Microbiol.* 2016; 47(3):665–74. doi: 10.1016/j.bjm.2016.04.019.
8. Colla E, Santos LO, Deamici K, Magagnin G, Venduscolo M, Costa JA. Simultaneous production of amyloglucosidase and exo-polygalacturonase by *Aspergillus niger* in a rotating drum reactor. *Appl Biochem Biotechnol.* 2017; 181(2):627–37. doi: 10.1007/s12010-016-2237-y.
9. Perez KJ, Viana JD, Lopes FC, Pereira JQ, Dos Santos DM, Oliveira JS. *Bacillus* spp. isolated from puba as a source of biosurfactants and antimicrobial lipopeptides. *Front Microbiol.* 2017; 8:61. doi: 10.3389/fmicb.2017.00061.
10. Liu C, Liu Y, Liao W, Wen Z, Chen S. Simultaneous production of nisin and lactic acid from cheese whey: optimization of fermentation conditions through statistically based experimental designs. *Appl Biochem Biotechnol.* 2004; 113(6):627–38.
11. Kang Z, Du L, Kang J, Wang Y, Wang Q, Liang Q et al. Production of succinate and polyhydroxyalkanoate from substrate mixture by metabolically engineered *Escherichia coli*. *Bioresour Technol.* 2011; 102(11): 6600–4. doi: 10.1016/j.biortech.2011.03.070.
12. Weselowski B, Nathoo N, Eastman AW, MacDonald J, Yuan ZC. Isolation, identification and characterization of *Paenibacillus polymyxa* CR1 with potentials for biopesticide, biofertilization, biomass degradation and biofuel production. *BMC Microbiol.* 2016; 16(1):244. doi:10.1186/s12866-016-0860-y.
13. Boudjeko T, Tchinda RA, Zitouni M, Nana JA, Lerat S, Beaulieu C. *Streptomyces carneroonensis* sp. nov., a geldanamycin producer that promotes *Theobroma cacao* growth. *Microbes Environ.* 2017; 32(1):24–31. doi: 10.1264/jsme2.ME16095.
14. El-Sayed WS, Akhkha A, El-Naggar MY, Elbadry M. In vitro antagonistic activity, plant growth promoting traits and phylogenetic affiliation of rhizobacteria associated with wild plants grown in arid soil. *Front Microbiol.* 2014; 5:651. doi: 10.3389/fmicb.2014.00651.



15. Dutta J, Thakur D. Evaluation of multifarious plant growth promoting traits, antagonistic potential and phylogenetic affiliation of rhizobacteria associated with commercial tea plants grown in Darjeeling, India. PLoS One. 2017; 12(8): e0182302. doi: 10.1371/journal.pone.0182302.
16. Passari AK, Mishra VK, Singh G, Singh P, Kumar B, Gupta VK et al. Insights into the functionality of endophytic actinobacteria with a focus on their biosynthetic potential and secondary metabolites production. Sci Rep. 2017; 7(1):11809. doi: 10.1038/s41598-017-12235-4.
17. Srividya S, Thapa A, Bhat DV, Golmei K, Dey N. *Streptomyces* sp. 9p as effective biocontrol against chilli soilborne fungal phytopathogenes. Eur J Exp Biol. 2012; 2(1):163–73.
18. Viayaraghavan P, Jeba Kumar S, Valan Arasu M, Al-Dhabi NA. Simultaneous production of commercial enzymes using agro industrial residues by statistical approach. J Sci Food Agric. 2019; 99(6):2685–96. doi: 10.1002/jsfa.9436.
19. Bhange K, Chaturvedi V, Bhatt R. Simultaneous production of detergent stable keratinolytic protease, amylase and biosurfactant by *Bacillus subtilis* PF1 using agro industrial waste. Biotechnol Rep (Amst). 2016; 10:94–104. doi: 10.1016/j.btre.2016.03.007.
20. Hmidet N, Jemil N, Nasri M. Simultaneous production of alkaline amylase and biosurfactant by *Bacillus methylothrophicus* DCS1: application as detergent additive. Biodegradation. 2018. doi: 10.1007/s10532-018-9847-8.
21. Urtuvia V, Villegas P, Gonzales M, Seeger M. Bacterial production of the biodegradable plastics polyhydroxyalkanoates. Int J Biol Macromol. 2014; 70:208–13. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2014.06.001.
22. Pagliano G, Ventorino V, Panico A, Pepe O. Integrated systems for biopolymers and bioenergy production from organic waste and by-products: a review of microbial processes. Biotechnol Biofuels. 2017; 10:113. doi: 10.1186/s13068-017-0802-4.
23. Kumar P, Kim BS. Valorization of polyhydroxyalkanoates production process by co-synthesis of value-added products Bioresour Technol. 2018; 269:544–56. doi: 10.1016/j.biortech.2018.08.120.
24. Li T, Elhadi D, Chen GQ. Co-production of microbial polyhydroxyalkanoates with other chemicals. Metab Eng. 2017; 43(Pt A):29–36. doi: 10.1016/j.ymben.2017.07.007.
25. Kumar P, Jun HB, Kim BS. Co-production of polyhydroxyalkanoates and carotenoids through bioconversion of glycerol by *Paracoccus* sp. strain LL1. Int J Biol Macromol. 2018; 107(Pt B):2552–8. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.10.147.
26. Ramachandran H, Amirul AA. Yellow-pigmented *Cupriavidus* sp., a novel bacterium capable of utilizing glycerine pitch for the sustainable production of P (3HB-co-4HB). J.Chem Technol Biotechnol. 2013; 88(6):1030–8. <https://doi.org/10.1002/jctb.3928>
27. de Jesus Assis D, Gomes GV, da Cunha Pascoal DR, Pinho LS, Chaves LB, Druzian JI. Simultaneous biosynthesis of polyhydroxyalkanoates and extracellular polymeric substance (EPS) from crude glycerol from biodiesel production by different bacterial strains. Appl Biochem Biotechnol. 2016; 180(6):1110–27. doi: 10.1007/s12010-016-2155-z.
28. Sukan A, Roy I, Keshavarz T. A strategy for dual biopolymer production of P (3HB) and  $\gamma$ -PGA. J Chem Technol Biotechnol. 2017; 92(7):1548–57.

29. Bhattacharya S, Dubey S, Singh P, Shrivastava A, Mishra S. Biodegradable polymeric substances produced by a marine bacterium from a Surplus stream of the biodiesel industry. *Bioengineering (Basel)*. 2016; 3(4). pii: E34. doi: 10.3390/bioengineering3040034.
30. Wang, J, Yu, HQ. Biosynthesis of polyhydroxybutyrate (PHB) and extracellular polymeric substances (EPS) by *Ralstonia eutropha* ATCC 17699 in batch cultures. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2007; 75(4):871–8.
31. Licciardello G, Ferraro R, Russo M, Strozzi F, Catara AF, Bella P et al. Transcriptome analysis of *Pseudomonas mediterranea* and *P. corrugata* plant pathogens during accumulation of medium-chain-length PHAs by glycerol bioconversion. *N Biotechnol*. 2017; 37(Pt A):39–47. doi: 10.1016/j.nbt.2016.07.006.
32. Shih IL, Shen MH, Van YT. Microbial synthesis of poly( $\epsilon$ -lysine) and its various applications. *Bioresour Technol*. 2006; 97(9):1148–59. doi: 10.1016/j.biortech.2004.08.012.
33. Bekelis K, Valdes PA, Erkmén K, Leblond F, Kim A, Wilson BC et al. Quantitative and qualitative 5-aminolevulinic acid induced protoporphyrin IX fluorescence in skull base meningiomas. *Neurosurg Focus*. 2011; 30(5): E8. doi: 10.3171/2011.2.FOCUS1112.
34. Liu S, Zhang G, Li X, Zhang J. Microbial production and applications of 5-aminolevulinic acid. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2014; 98(17):7349–57. doi: 10.1007/s00253-014-5925-y.
35. Li T, Guo YY, Qiao GQ, Chen GQ. Microbial synthesis of 5-aminolevulinic acid and its coproduction with polyhydroxybutyrate. *ACS Synth Biol*. 2016; 5(11):1264–74. doi: 10.1021/acssynbio.6b00105
36. Zhang X, Zhang J, Xu J, Zhao Q, Wang Q, Qi Q. Engineering *Escherichia coli* for efficient coproduction of polyhydroxyalkanoates and 5-aminolevulinic acid. *J Ind Microbiol Biotechnol*. 2018; 45(1):43–51. doi: 10.1007/s10295-017-1990-4.
37. Kang Z, Gao C, Wang Q, Liu H, Qi Q. A novel strategy for succinate and polyhydroxybutyrate co-production in *Escherichia coli*. *Bioresour Technol*. 2010; 101(19):7675–8.
38. Shamala TR, Vijayendra SV, Joshi GJ. Agro-industrial residues and starch for growth and co-production of polyhydroxyalkanoate copolymer and  $\alpha$ -amylase by *Bacillus* sp. CFR-67. *Braz J Microbiol*. 2012; 43(3):1094–102. doi: 10.1590/S1517-838220120003000036.
39. Sreekanth MS, Vijayendra SV, Joshi GJ, Shamala TR. Effect of carbon and nitrogen sources on simultaneous production of  $\alpha$ -amylase and green food packaging polymer by *Bacillus* sp. CFR-67. *J Food Sci Technol*. 2013; 50(2):404–8. doi: 10.1007/s13197-012-0639-6.
40. Barcelos MCS, Vespermann KAC, Pelissari FM, Molina G. Current status of biotechnological production and applications of microbial exopolysaccharides. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2019; 11:1–21. doi: 10.1080/10408398.2019.1575791.
41. Wu M, Li G, Huang H, Chen S, Luo Y, Zhang W et al. The simultaneous production of sphinganine and poly(R-3-hydroxybutyrate) in *Sphingomonas sanxanigenes* NX02. *Int J Biol Macromol*. 2015; 82:361–8. doi:10.1016/j.ijbiomac.2015.09.071.
42. Tohme S, Haciosmanoglu GG, Eroglu MS, Kasavi C, Genc S, Can ZS et al. *Halomonas smyrnensis* as a cell factory for co-production of PHB and levan. *Int J Biol Macromol*. 2018; 118(Pt A):1238–46. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.06.197.

43. Saranya Devi E, Vijayendra SVN, Shamala TR. Exploration of rice bran, an agro-industry residue, for the production of intraand extra-cellular polymers by *Sinorhizobium meliloti* MTCC 100. *Biocatal Agric Biotechnol*. 2012; 1(1):80–4.
44. Cheirsilp B, Suksawang S, Yeesang J, Boonsawang P. Co-production of functional exopolysaccharides and lactic acid by *Lactobacillus kefiranofaciens* originated from fermented milk, kefir. *J Food Sci Tech*. 2018; 55(1):331–40. doi:10.1007/s13197-017-2943-7.
45. Nakamori S. Early History of the Breeding of Amino Acid-Producing Strains. *Adv Biochem Eng Biotechnol*. 2017; 159:35–53. doi: 10.1007/10\_2016\_25.
46. Liu Q, Ouyang SP, Kim J, Chen GQ. The impact of PHB accumulation on L-glutamate production by recombinant *Corynebacterium glutamicum*. *J Biotechnol*. 2007; 132(3):273–9.
47. Jo SJ, Leong CR, Matsumoto K, Taguchi S. Dual production of poly(3-hydroxybutyrate) and glutamate using variable biotin concentrations in *Corynebacterium glutamicum*. *J Biosci Bioeng*. 2009; 107(4):409–11. doi: 10.1016/j.jbiosc.2008.12.003.
48. Ma W, Wang J, Li Y, Yin L, Wang X. Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) co-produced with L-isoleucine in *Corynebacterium glutamicum* WM001. *Microb Cell Fact*. 2018; 17(1):93. doi: 10.1186/s12934-018-0942-7.
49. Xu M, Qin J, Rao Z, You H, Zhang X, Yang T et al. Effect of polyhydroxybutyrate (PHB) storage on L-arginine production in recombinant *Corynebacterium crenatum* using coenzyme regulation. *Microb Cell Fact*. 2016; 15. doi: 10.1186/s12934-016-0414-x.
50. Gu P, Kang J, Yang F, Wang Q, Liang Q, Qi Q. The improved L-tryptophan production in recombinant *Escherichia coli* by expressing the polyhydroxybutyrate synthesis pathway. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2013; 97(9):4121–7. doi: 10.1007/s00253-012-4665-0.
51. Han G, Hu X, Wang X. Co-production of S-adenosyl-L-methionine and L-isoleucine in *Corynebacterium glutamicum*. *Enzyme Microb Technol*. 2015; 8:27–33. doi: 10.1016/j.enzmictec.2015.06.003.
52. Jemil N, Ben Ayed H, Hmidet N, Nasri M. Characterization and properties of biosurfactants produced by a newly isolated strain *Bacillus methylotrophicus* DCS1 and their application in enhancing solubility of hydrocarbon. *World J Microbiol Biotechnol*. 2016; 32(11):175. doi: 10.1007/s11274-016-2132-2.
53. Hu X, Cheng T, Liu J. A novel *Serratia* sp. ZS6 isolate derived from petroleum sludge secretes biosurfactants and lipase in medium with olive oil as a sole source. *AMB Express*. 2018; 8(1):165. doi: 10.1186/s13568-018-0698-9.
54. Zarinviarsagh M, Ebrahimipour G, Sadeghi H. Lipase and biosurfactant from *Ochrobactrum intermedium* strain MZV101 isolated by washing powder for detergent application. *Lipids Health Dis*. 2017; 16(1):177. doi: 10.1186/s12944-017-0565-8.
55. Ebrahimipour G, Sadeghi H, Zarinviarsagh M. Statistical Methodologies for the Optimization of Lipase and Biosurfactant by *Ochrobactrum intermedium* Strain MZV101 in an Identical Medium for Detergent Applications. *Molecules*. 2017; 22(9). pii: E1460. doi: 10.3390/molecules22091460.
56. de Carvalho-Goncalves LCT, Goralach-Lira K. Lipases and biosurfactants production by the newly isolated *Burkholderia* sp. *Braz J Biol Sci*. 2018; 5(9):57–68. doi:10.21472/bjbs.050906.

57. Colla LM, Rizzardi J, Pinto MH, Reinehr CO, Bertolin TE, Costa JA. Simultaneous production of lipases and biosurfactants by submerged and solid-state bioprocesses. *Bioresour Technol.* 2010; 101(21):8308–14. doi: 10.1016/j.biortech.2010.05.086.
58. Kourmentza C, Costa J, Azevedo Z, Servin C, Grandfils C, De Freitas V, *Burkholderia thailandensis* as a microbial cell factory for the bioconversion of used cooking oil to polyhydroxyalkanoates and rhamnolipids. *Bioresour Technol.* 2018; 247:829–37. doi: 10.1016/j.biortech.2017.09.138.
59. Pirog T, Leonova N, Shevchuk T, Savenko I, Iutinska G. [Synthesis of phytohormones bacteria of *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241, *Rhodococcus erythropolis* IMV Ac-5017 and *Nocardia vaccinii* IMV B-7405 – producers of surface-active substances]. *Proc Nat Acad Sci Belarus. Biological series*, 2016; 1:90–5. Russian. <http://vestibio.belnauka.by/jour/article/view/195>
60. Pacwa-Płociniczak M, Płociniczak T, Iwan J, Żarska M, Chorążewski M, Dzida M, et al. Isolation of hydrocarbon-degrading and biosurfactant-producing bacteria and assessment their plant growth-promoting traits. *J Environ Manage.* 2016; 168:175–84. doi: 10.1016/j.jenvman.2015.11.058.
61. Rodriguez N, Salgado JM, Cortes S, Dominguez JM. Alternatives for biosurfactants and bacteriocins extraction from *Lactococcus lactis* cultures under different pH conditions. *Lett Appl Microbiol.* 2010; 51(2):226–33. doi: 10.1111/j.1472-765X.2010.02882.x.
62. Sharma D, Singh Saharan B. Simultaneous production of biosurfactants and bacteriocins by probiotic *Lactobacillus casei* MRTL3. *Int J Microbiol.* 2014; 2014:698713. doi: 10.1155/2014/698713.
63. Cagri-Mehmetoglu A, Kusakli S, van de Venter M. Production of polysaccharide and surfactin by *Bacillus subtilis* ATCC 6633 using rehydrated whey powder as the fermentation medium. *J Dairy Sci.* 2012; 95(7):3643–9. doi: 10.3168/jds.2012-5385.
64. Liang TW, Wu CC, Cheng WT, Chen YC, Wang CL, Wang IL et al. Exopolysaccharides and antimicrobial biosurfactants produced by *Paenibacillus macerans* TKU029. *Appl Biochem Biotechnol.* 2014; 172(2):933–50. doi: 10.1007/s12010-013-0568-5.
65. Gopinath SC, Anbu P, Arshad MK, Lakshmi Priya T, Voon CH, Hashim U, et al. Biotechnological processes in microbial amylase production. *Biomed Res Int.* 2017; 2017:1272193. doi: 10.1155/2017/1272193.
66. Su C, Xiang Z, Liu Y, Zhao X, Sun Y, Li Z, et al. Analysis of the genomic sequences and metabolites of *Serratia surfactantifaciens* sp. nov. YD25 that simultaneously produces prodigiosin and serrawetin W2. *BMC Genomics.* 2016; 17(1):865. doi: 10.1186/s12864-016-3171-7.
67. Su C, Liu Y, Sun Y, Li Z. Complete genome sequence of *Serratia* sp. YD25 (KCTC 42987) presenting strong antagonistic activities to various pathogenic fungi and bacteria. *J Biotechnol.* 2017; 245:9–13. doi: 10.1016/j.jbiotec.2017.01.011.
68. Chayabutra C, Ju L.-K. Polyhydroxyalkanoic acids and rhamnolipids are synthesized sequentially in hexadecane fermentation by *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145. *Biotechnol Progr.* 2001; 17(3):419–23.
69. Hori K, Marsudi S, Unno H. Simultaneous production of polyhydroxyalkanoates and rhamnolipids by *Pseudomonas aeruginosa*. *Biotechnol Bioeng.* 2002; 78(6):699–707.
70. Soberón-Chávez G, Aguirre-Ramírez M, Sánchez R. The *Pseudomonas aeruginosa* RhIA enzyme is involved in rhamnolipid and polyhydroxyalkanoate production. *J Ind Microbiol Biotechnol.* 2005; 32(11):675–7.

71. Marsudi S, Unno H, Hori K. Palm oil utilization for the simultaneous production of polyhydroxyalkanoates and rhamnolipids by *Pseudomonas aeruginosa*. Appl Microbiol Biotechnol. 2008;78(6):955–61.
72. Costa SG, Lépine F, Milot S, Déziel E, Nitschke M, Contiero J. Cassava wastewater as a substrate for the simultaneous production of rhamnolipids and polyhydroxyalkanoates by *Pseudomonas aeruginosa*. J Ind Microbiol Biotechnol. 2009; 36(8):1063–72.
73. Pantazaki AA, Papanephytous CP, Lambropoulou DA. Simultaneous polyhydroxyalkanoates and rhamnolipids production by *Thermus thermophilus* HB8. AMB Express. 2011; 1(1):17. doi: 10.1186/2191-0855-1-17.
74. Rashid NF, Azemi MA, Amirul A, Wahid A, Bhubalan K. Simultaneous production of biopolymer and biosurfactant by genetically modified *Pseudomonas aeruginosa* UMTKB-5. Int Proc Chem Biol Environ. Eng. 2015; 90:3–8.
75. Pirog TP, Leonova NO, Shevchuk TA, Panasuk EV, Beregovaya KA, Iutynskaya GA. [Synthesis of phytohormones by *Nocardia vaccinii* IMV B-7405 – producer of surfactants]. Mikrobiol Z. 2015; 77(6):21–30. Russian. [http://microbiolj.org.ua/images/files/magazine/2015/6/2015\\_77\\_6\\_03\\_Pirog.pdf](http://microbiolj.org.ua/images/files/magazine/2015/6/2015_77_6_03_Pirog.pdf)
76. Pirog TP, Iutynska GO, Leonova NO, Beregova KA, Shevchuk TA. Microbial synthesis of phytohormones. Biotech Acta. 2018; 11(1): 5–24. <https://doi.org/10.15407/biotech11.01.005>
77. Jayakumar A, Krishna A, Mohan M, Nair IC, Radhakrishnan EK. Plant growth enhancement, disease resistance, and elemental modulatory effects of plant probiotic endophytic *Bacillus* sp. Fc11. Probiotics Antimicrob Proteins. 2018; doi: 10.1007/s12602-018-9417-8.
78. Sabaté DC, Brandan CP, Petroselli G, Erra-Balsells R, Audisio MC. Biocontrol of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary on common bean by native lipopeptide-producer *Bacillus* strains. Microbiol Res. 2018; 211:21–30. doi: 10.1016/j.micres.2018.04.003.
79. Wu T, Xu J, Xie W, Yao Z, Yang H, Sun C, et al. *Pseudomonas aeruginosa* L10: a hydrocarbon-degrading, biosurfactant-producing and plant-growth-promotion endophytic bacterium isolated from a reed (*Phragmites australis*). Front Microbiol. 2018; 9:1087. doi: 10.3389/fmicb.2018.01087.
80. Baidara P, Mandal SM, Chawla N, Singh PK, Pinnaka AK, Korpole S. Characterization of two antimicrobial peptides produced by a halotolerant *Bacillus subtilis* strain SK.DU.4 isolated from a rhizosphere soil sample. AMB Express. 2013; 3(1):2. doi:10.1186/2191-0855-3-2.

Отримано 18.07.2019