

BIOCONVERSION OF WASTE OIL TO MICROBIAL EXOPOLYSACCHARIDE ETHAPOLAN FOR ENVIRONMENTAL TECHNOLOGIES

A. Voronenko, M. Yarosh, T. Pirog

National University of Food Technologies

Key words:

Acinetobacter sp.
IMV B-7005 exopolysaccharides
Ethapolan
Biosynthesis
Mixture of sodium acetate or molasses with waste sunflower oil

Article history:

Received 20.07.2020
Received in revised form 10.08.2020
Accepted 25.08.2020

Corresponding author:

A. Voronenko
E-mail:
npnuht@ukr.net

ABSTRACT

The possibility of using such waste for the synthesis of exopolysaccharide ethapolan (produced by *Acinetobacter sp. IMV B-7005*) was shown. However, the concentration of the polysaccharide when it was cultivated on waste was low. One of the approaches to the intensification of synthesis is using a mixture of waste oil with other substrates, that was the aim of this work.

The amount of synthesized polysaccharide was determined by the gravimetric method after precipitation of isopropanol. EPS-synthesizing ability was defined as the ratio of the number of synthesized polysaccharide to biomass and expressed in gEPS/g biomass.

The possibility of the synthesis of ethapolan by strain IMV B-7005 on a mixture of waste oil of different quality (after frying of potatoes, meat, vegetables, mixed) in the mixture with molasses was determined. Under these conditions indicators of the synthesis of ethapolan were 1.4—2.5 times higher compared to the cultivation of producer on waste oil monosubstrate. Further replacement of molasses in the mixture with oil on sodium acetate led to the increase of a pH of the culture liquid to 8.0—9.0 and the significant decrease of indicators of the ethapolan synthesis. To stabilize the pH on a level, optimum for the synthesis of EPS, a content of an alkaline component in the medium was reduced, as well as a fractional addition of substrates was carried out. Under these cultivation conditions indicators of the ethapolan synthesis were 1.7 times higher compared to results obtained without fractional substrates addition, and the concentration of the synthesized polysaccharide was more than 17 g/l.

Based on an experimental data the cost of the nutrient medium for the ethapolan synthesis on the mixture of cheap and available substrates (the mixture of mixed waste oil with molasses or acetate) for washing tanks from residues of oil and oil products JSC “Ukrzaliznytsia” was calculated, that is the basis for the development of a universal ecologically safe wasteless technology of its production independent of the quality, type, and supplier of waste oil.

БІОКОНВЕРСІЯ ВІДПРАЦЬОВАНОЇ ОЛІЇ В МІКРОБНИЙ ЕКЗОПОЛІСАХАРИД ЕТАПОЛАН ДЛЯ ПРИРОДООХОРОННИХ ТЕХНОЛОГІЙ

А. А. Вороненко, М. Б. Ярош, Т. П. Пирог

Національний університет харчових технологій

У статті показано можливість використання відпрацьованих олій у біотехнологічному виробництві, зокрема для синтезу екзополісахариду етаполану (продуцент — *Acinetobacter* sp. IMB B-7005). Однак концентрація полісахариду при культивуванні на відходах була невисокою. Одним зі шляхів інтенсифікації синтезу є використання суміші відпрацьованої олії з іншими субстратами.

Кількість синтезованого полісахариду визначали ваговим методом після осадження ізопропанолом. ЕПС-синтезувальну здатність визначали як відношення кількості синтезованого полісахариду до біомаси та виражали у гЕПС/г біомаси.

Встановлено можливість синтезу етаполану штатом IMB B-7005 на суміші відпрацьованої олії різної якості (після смаження картоплі, м'яса, овочів, змішаній) у суміші з м'ясою. За таких умов показники синтезу етаполану були в 1,4—2,5 рази вищими порівняно з культивуванням продуцента на моносубстраті відпрацьованої олії. Подальша заміна м'яса в суміші з олією на ацетат натрію призвела до підвищення рН культуральної рідини до 8,0—9,0 та істотного зниження показників синтезу етаполану. Для стабілізації рН на оптимальному для синтезу ЕПС рівні знижували вміст лужної складової середовища, а також здійснювали дробне внесення субстратів. За таких умов культивування показники синтезу етаполану були в 1,7 рази вищими порівняно з результатами, отриманими без дробного внесення субстратів, а концентрація синтезованого полісахариду становила понад 17 г/л.

На основі експериментальних даних розраховано собівартість поживних середовищ для синтезу етаполану на суміші дешевих і доступних субстратів (суміші змішаної відпрацьованої олії з м'ясою або ацетатом), необхідного для миття цистерн від залишків нафти та нафтопродуктів АТ «Укрзалізниця», що є основою для розробки універсальної екологічно безпечної безвідходної технології його одержання, незалежної від якості, типу та постачальника відпрацьованої олії.

Ключові слова: *Acinetobacter* sp. IMB B-7005, екзополісахариди, етаполан, біосинтез, суміш ацетату або м'яса з відпрацьованою соняшниковою олією.

Постановка проблеми. Однією з глобальних екологічних проблем сучасності є пошук ефективних методів утилізації або повторного використання промислових відходів. Слід зазначити, що небезпечними є не лише відходи, що містять

токсичні речовини, а й ті, які потрапляють у навколишнє середовище в неконтрольованій кількості. Одним із таких відходів в Україні та світі є відпрацьована (пересмажена) рослинна олія (соняшникова, оливкова, соєва тощо).

Так, за даними Агентства управління енергетичною інформацією США, станом на 2019 р. в Сполучених Штатах Америки щодня збирають декілька мільйонів галонів відпрацьованої олії в закладах громадського харчування. У Європі ця кількість становить близько 0,5—0,7 млн галонів на день [2]. Відповідно до даних Державної служби статистики у 2018 р. в Україні було виготовлено 5,1 млн т рафінованої соняшникової олії, переважна частина якої потрапить у навколишнє середовище у вигляді відпрацьованої олії після смаження їжі. Значимо, що в Україні викиди відпрацьованої соняшникової олії в навколишнє середовище не регламентуються.

Один із шляхів утилізації таких відходів — використання для виробництва біодизелю та одержання біологічно активних речовин, проте значним недоліком технології є необхідність попереднього очищення олії, на що затрачаються додаткові кошти [3].

Зважаючи на це, перспективним екологічним підходом до утилізації токсичної відпрацьованої олії є її використання як субстрату в біотехнологічних процесах, зокрема для одержання мікробних екзополісахаридів (ЕПС). Попри це, до теперішнього часу для отримання ЕПС в основному використовують дорогу вуглеводну сировину (сахароза, глюкоза тощо) [1; 4]. При цьому літературні відомості про одержання мікробних полісахаридів на промислових відходах є обмеженими, а інформація про їхній синтез на відпрацьованих оліях відсутня.

Нині мікробні ЕПС завдяки їхній здатності до змінення реологічних характеристик водних систем, емульгування, суспендування, гелеутворення широко використовуються у нафто- і гірничодобувній, харчовій, парфумерній, хімічній і текстильній промисловості, сільському господарстві та є об'єктами інтенсивних досліджень. Мікробні полісахариди мають ряд переваг перед синтетичними та рослинними полісахаридами. Так, ці біополімери є нетоксичними і біодеградабельними, стійкими до механічної та окисної деструкції [6].

Перспективним вітчизняним полісахаридом мультифункціонального призначення є етаполан (продуцент штам *Acinetobacter* sp. ІМВ В-7005). Раніше було встановлено здатність до синтезу цього полісахариду на широкому наборі різноманітних вуглеводних моносубстратів (вуглеводи, етанол, ацетат, органічні кислоти) і сумішах. Також вперше показано можливість отримання етаполану на відпрацьованій олії [5]. Основним недоліком використання такого субстрату була низька концентрація цільового продукту.

У той же час використання олії як субстрату для біосинтезу етаполану може сприяти утворенню ЕПС з підвищеним ступенем ацилування, що призведе до покращення його практично цінних властивостей [10]. Додатково інтенсифікувати синтез ЕПС можна завдяки використанню олії в суміші з іншими ростовими субстратами.

Мета статті: дослідити можливість біоконверсії суміші відпрацьованої соняшникової олії з іншими субстратами (меляса, ацетат натрію) в мікробний екзополісахарид етаполан.

Матеріали і методи. Як об'єкт досліджень використовували ЕПС-синтезувальний штам *Acinetobacter* sp. 12S, депонований у Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології Національної академії наук України за номером ІМВ В-7005.

Штам ІМВ В-7005 вирощували у рідких мінеральних середовищах з таким складом (г/л):

- середовище 1: KH_2PO_4 – 6,8; KOH – 0,9; $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ – 0,4; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ – 0,1; NH_4NO_3 – 0,2; $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ – 0,001;

- середовище 2: KH_2PO_4 – 3,4; $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ – 0,4; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ – 0,1; NH_4Cl – 0,8; $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ – 0,001.

У середовище додатково вносили 0,5% (об'ємна частка) дріжджового автолізу, а також мультивітамінний комплекс «Комплевіт» у концентрації 0,00085% (масова частка в перерахунку на пантотенат). Штам ІМВ В-7005 є ауксотрофом за пантотенатом.

Як субстрат для біосинтезу використовували такі види олій у концентрації 5,0—7,0% (об'ємна частка): рафінована (ТМ «Стожар», Україна), нерафінована (ТМ «Олейна», Україна), відпрацьована різної якості після смаження м'яса та картоплі (з мережі McDonald's м. Київ, Україна), а також три різні партії (відбір проводився через кожні два місяці) змішаної соняшникової олії після смаження м'яса, картоплі, цибулі, сиру (отримана з пабу «RockerPub» Київ, Україна). В одному з варіантів як джерело вуглецю та енергії використовували суміш меляси (масовою часткою 1,5% за вуглеводами) та олій різної якості (об'ємною часткою 1,5%).

Під час дослідження синтезу етаполану за дробного внесення субстратів початкову концентрацію ацетату та змішаної відпрацьованої олії знижували до 1,0 та 0,5% з подальшим дробним внесенням цих субстратів порціями по 0,5, 1,0 і 1,5%, а олії 1,0, 1,5 і 2,5% до кінцевої концентрації 3,0% ацетату та 5,0% олії. Для підтримання рН на рівні 7,0—8,0 (оптимальному для синтезу етаполану) здійснювали підкислення культуральної рідини оцтовою кислотою.

Як посівний матеріал використовували культуру з експоненційної фази росту (18—24 год), вирощену на середовищі, що містило як джерело вуглецю й енергії такі моносубстрати: рафіновану, нерафіновану, відпрацьовану або змішану соняшкову олію (0,5%), мелясу (0,5%), ацетат натрію (масовою часткою 0,5%) або суміш ацетату натрію (0,25%) та соняшникової олії (0,25%). Концентрація інокуляту становила 10%.

Оскільки продуцент етаполану не асимілює сахарозу, мелясу попередньо гідролізували: до 100 г меляси додавали дистильовану воду до кінцевого об'єму 200 мл, в отриманий розчин вносили 20 мл 1 н H_2SO_4 (до рН 4,0) і стерилізували при 112°C протягом 30 хв.

Культивування штаму ІМВ В-7005 здійснювали в колбах (750 мл) із 100 мл середовища на качалці (320 об/хв) при температурі 30°C упродовж 120 год.

Концентрацію біомаси визначали за оптичною густиною клітинної суспензії з перерахунком на суху біомасу згідно з калібрувальним графіком. Кількість синтезованого етаполану визначали ваговим методом. Для цього до певного об'єму культуральної рідини (зазвичай 10—15 мл) додавали 1,5—2 об'єми ізопропанолу, осад ЕПС промивали чистим ізопропанолом і висушували при кімнатній температурі упродовж 24 год. ЕПС-синтезувальну здатність розраховували як відношення концентрації ЕПС до концентрації сухої біомаси та виражали у г ЕПС/г біомаси.

Статистичну обробку даних проводили за Лакінім [8]. Результати досліджень згідно з *t*-критерієм Стюдента виявилися статистично достовірними при 5-відсотковому рівні значимості.

Результати і обговорення. Відпрацьована олія є токсичним відходом, який містить токсичні речовини (наприклад, акролеїн – акриламід, здатний руйнувати ДНК; гетероциклічні аміни, що спричиняють серцеві захворювання; та полімери жирних кислот, вільні радикали тощо) [7] та, зазвичай, потрапляє в навколишнє середовище в неконтрольованій кількості, що обумовлює необхідність його ефективної утилізації в максимальних кількостях.

У попередніх дослідженнях [7] встановлено, що максимальна концентрація рафінованої олії в середовищі культивування для отримання етаполану становить 5%. Зважаючи на це, у подальших експериментах пересмажену олію вносили в середовище культивування штаму IMB B-7005 у такій же концентрації.

Відпрацьована олія є субстратом непостійного складу, якість якого значною мірою залежить від режиму та кратності смаження, а також типу приготованих страв [5].

Дані, наведені у табл. 1. засвідчують, що заміна рафінованої олії на відпрацьовану супроводжувалась підвищенням синтезу етаполану до 10,4 г/л. У той же час при використанні відпрацьованої після смаження картоплі олії спостерігалось різке зниження показників синтезу етаполану (концентрація ЕПС і ЕПС-синтезувальна здатність не перевищували 4,2 г/л і 3,3 г ЕПС/г біомаси відповідно). Такі результати можуть бути пояснені утворенням під час смаження картоплі великої кількості альдегідів (акролеїн), що можуть бути інгібіторами росту і синтезу ЕПС [7].

Таблиця 1. Синтез етаполану на різних типах соняшникової олії

Соняшникова олія в середовищі для біосинтезу	ЕПС, г/л	ЕПС-синтезувальна здатність, г ЕПС/г біомаси
Рафінована	9,1±0,45	5,2±0,26
Нерафінована	10,0±0,50	3,3±0,17
Відпрацьована після смаження м'яса	10,4±0,52	4,5±0,23
Відпрацьована після смаження картоплі	4,2±0,21	3,3±0,17

Примітка: концентрація субстрату — 5%. Інокулят вирощували на відповідній олії.

Зазначимо, що подальше збільшення в середовищі культивування концентрації пересмаженої олії до 6—7% призводило до зниження показників синтезу етаполану, зумовленого наявністю в складі олії великої кількості токсичних інгібіторів росту та синтезу ЕПС.

Одним із підходів до інтенсифікації технологій мікробного синтезу є використання суміші ростових субстратів [11]. Ми припустили, що такий підхід може бути використаний для підвищення синтезу етаполану на відпрацьованій соняшниковій олії.

Як додатковий субстрат було обрано м'ясо. Вибір обумовлено такими причинами: 1) м'яса значно дешевша за очищені вуглеводні субстрати (глюкоза, сахароза тощо); 2) раніше встановлено можливість синтезу етаполану на м'ясі як моносубстраті, що, у свою чергу, дає змогу відразу використовувати цей субстрат для розробки базових технологій [11]; 3) заміна глюкози на м'ясо при вирощуванні продуцента на суміші м'яса та C₂–C₄–субстратів у всіх варіантах приводила до збільшення кількості синтезованого етаполану [11].

У зв'язку з викладеним вище на наступному етапі досліджували можливість синтезу етаполану на суміші м'яса та соняшникової олії.

З даних, наведених у табл. 2, видно, що незалежно від способу підготовки інокуляту й типу відпрацьованої олії в суміші з м'ясом, кількість синтезованого етаполану (11—13 г/л) була практично такою самою, як і за використання очищеного субстрату (10—12 г/л).

Варто зазначити, що використання пересмаженої олії для одержання посівного матеріалу є більш доцільним з економічної точки зору, оскільки субстрат не потребує стерилізації та дешевший за м'ясо. Окрім цього, використання відпрацьованої олії для підготовки інокуляту та біосинтезу ЕПС дає змогу підвищити обсяги утилізації цього токсичного відходу, а також сприяє додатковому зниженню собівартості цільового продукту.

Враховуючи те, що перед відправкою на переробку (виробництво біодизелю, використання в біотехнологічних процесах) або утилізацію пересмажену олії, зазвичай, змішують, у подальших експериментах досліджували синтез ЕПС на суміші м'яса та змішаної відпрацьованої олії.

Встановлено, що використання змішаної пересмаженої олії для одержання інокуляту та біосинтезу ЕПС супроводжувалось додатковим підвищенням показників синтезу етаполану (концентрація ЕПС становила 14 г/л, ЕПС-синтезувальна здатність — 3,5 г ЕПС/г біомаси), порівняно з використанням інших типів відпрацьованих олій (після смаження картоплі, м'яса, овочів) (табл. 2).

Таблиця 2. Показники синтезу етаполану на суміші м'яса (1,5%) та соняшникової олії (1,5%) залежно від способу підготовки інокуляту

Олія у суміші з м'ясом	Субстрат для одержання інокуляту	ЕПС, г/л	ЕПС-синтезувальна здатність, г ЕПС/г біомаси
1	2	3	4
Рафінована	Рафінована олія	10,09±0,50	3,60±0,18
	М'ясо	12,25±0,61	3,35±0,17
Відпрацьована після смаження картоплі «фрі»	Відпрацьована олія після смаження картоплі «фрі»	11,06±0,55	2,61±0,13
	М'ясо	13,52±0,68	3,21±0,16

1	2	3	4
Відпрацьована після смаження картоплі по-селянськи	Відпрацьована олія після смаження картоплі по-селянськи	11,66±0,58	2,69±0,13
	М'яса	13,19±0,66	2,25±0,11
Відпрацьована після смаження м'яса	Відпрацьована олія після смаження м'яса	12,41±0,62	3,42±0,17
	М'яса	11,33±0,57	2,87±0,14
Відпрацьована після смаження овочів	Відпрацьована олія після смаження овочів	9,94±0,50	2,95±0,15
	М'яса	10,71±0,54	3,15±0,16
Змішана відпрацьована	Відпрацьована змішана олія	13,92±0,70	3,49±0,17
	М'яса	12,90±0,65	3,28±0,16

Беручи до уваги наведені вище результати, а також зважаючи на мінливість складу пересмаженої олії, на наступному етапі роботи досліджували синтез етаполану на суміші м'яса та різних партій змішаної відпрацьованої олії.

Експерименти показали, що показники синтезу етаполану були стабільними і майже не змінювалися при використанні різних партій відпрацьованого субстрату (табл. 3).

Зазначимо, що культивування штаму IMB B-7005 на суміші олії з азотвмісним субстратом м'ясою призводило не тільки до підвищення кількості синтезованого етаполану, а й супроводжувалось додатковим накопиченням біомаси, що істотно знижує ефективність технології внаслідок ускладнення виділення та очищення полісахариду. Одним зі шляхів вирішення цієї проблеми є використання в суміші з олією субстрату, що не містить у своєму складі азоту, зокрема ацетату, який раніше успішно використовувався для одержання етаполану [11].

Таблиця 3. Вплив різних партій змішаної відпрацьованої олії в суміші з м'ясою на синтез етаполану

Партія змішаної олії в суміші з м'ясою*	ЕПС, г/л	ЕПС-синтезувальна здатність, г ЕПС/г біомаси
Перша	13,84±0,69	1,43±0,07
Друга	12,64±0,63	1,78±0,09
Третя	14,98±0,75	1,50±0,08

Примітка: * — партії змішаної відпрацьованої олії описані в матеріалах і методах. Посівний матеріал вирощували на відповідній змішаній пересмаженій олії.

У зв'язку з наведеним вище наступний етап роботи було присвячено дослідженню синтезу ЕПС на суміші ацетату та змішаної відпрацьованої олії.

Експерименти показали, що заміна м'яса на ацетат натрію в суміші з олією призводило до підвищення рН культуральної рідини до неоптимального для синтезу ЕПС рівня (8,0—9,0). Таке надмірне підвищення рН середовища зумовлене транспортом ацетату в клітини продуцента симпортом з протоном. Ми припустили, що знизити рН культуральної рідини можна завдяки зниженню лужної складової середовища та здійснення дробного внесення субстратів.

Проте результати показали, що такий підхід не супроводжувався стабілізацією рН, хоча й призводив до підвищення концентрації синтезованого етаполану до 11 г/л. Зважаючи на це, у подальших експериментах при дробному внесенні субстратів ацетат натрію замінювали на еквімолярну за вуглецем кількість оцтової кислоти (табл. 4). Встановлено, що така заміна супроводжувалась не тільки підтримкою рН на оптимальному для одержання ЕПС рівні, а й призводила до загального підвищення показників його синтезу (концентрація ЕПС становила 17,3 г/л, ЕПС-синтезувальна здатність — 6,5 г ЕПС/г біомаси).

Варто зазначити, що завдяки наявності жирних кислот розчинам етаполану притаманна висока здатність до емульгування, що робить можливим їхнє використання для очищення обладнання від нафти та нафтопродуктів [11].

Таблиця 4. Вплив дробного внесення субстратів на синтез етаполану

Варіанти культивування	рН	ЕПС, г/л	ЕПС-синтезувальна здатність, г ЕПС/г біомаси
Без дробного внесення субстратів (контроль)	8,7	4,9	1,07±0,05
Дробне внесення ацетату натрію та олії	8,0	11,0	4,23±0,21
Дробне внесення оцтової кислоти та олії	7,7	17,27	6,47±0,32

Очищення ємностей від залишків нафтопродуктів є рутинною технологічною операцією, від якої значною мірою залежить безпека та ефективність транспортування нафти.

На сьогодні найбільш розповсюдженим методом очищення резервуарів і транспортних ємностей з-під нафтопродуктів є гідромеханічне очищення з використанням гарячих водних розчинів високоактивних хімічних агентів. Зазначимо, що такий підхід має ряд недоліків [9]: 1) генерація великої кількості хімічно забрудненої води; 2) значна витрата теплової енергії для підігріву та подачі води; 3) підвищений ризик для здоров'я та безпеки людей, що проводять очистку; 4) значні витрати на гідромеханічне обладнання та хімічні реагенти; 5) необхідність подальшої утилізації хімічних реагентів.

Як альтернативу такому підходу запропоновано використовувати для очищення розчини етаполану, який є емульгатором біологічного походження. Раніше показано [11], що як миючий засіб можна використовувати 0,1% етаполанвмісну культуральну рідину після вирощування штаму ІМВ В-7005.

Станом на 2018 р. обсяги транспортування нафти та нафтопродуктів залізницею до Кременчуцького нафтопереробного заводу становили 240 тис. т нафти у 4 000 цистернах об'ємом 60 м³. Заповнення цистерн миючим розчином здійснюється на 20%, тому для миття однієї цистерни об'ємом 60 м³ необхідно 12 м³ робочого розчину етаполану, а для 500 цистерн — 6 000 м³ робочого розчину, або 6 т етаполану.

Розрахунок кількості культуральної рідини для одержання такої кількості етаполану згідно з різними технологіями на основі відпрацьованої олії, а також вартість відповідних поживних середовищ наведено в табл. 5.

Таблиця 5. Вартість поживних середовищ для різних технологій одержання етаполану

Технологія	Концентрація ЕПС, г/л	Загальна вартість*, грн	Потреба в культуральній рідині, м ³	Вартість середовища, тис. грн
Базова (субстрат відпрацьована олія)	10,4	1,6	577	923,2
Вдосконалена 1 (субстрат суміш змішаної відпрацьованої олії та меляси)	14,98	3,1	400	1 240
Вдосконалена 2 (суміш змішаної відпрацьованої олії з ацетатом, дробне внесення субстратів і регуляція pH)	17,27	1,3	347	451,1

Примітка: * — розрахунок вартості компонентів для отримання 1 л поживного середовища.

З наведених розрахунків видно, що використання етаполану, синтезованого на суміші змішаної відпрацьованої олії та ацетату, для миття цистерн з-під нафти є найбільш доцільним з економічної точки зору, оскільки витрати на його одержання є в 2,0—2,7 раза нижчими порівняно з іншими технологіями на змішаній відпрацьованій олії.

Висновки

У результаті проведених досліджень встановлено можливість синтезу етаполану *Acinetobacter* sp. IMB B-7005 на відпрацьованій олії різної якості (після смаження картоплі, м'яса, овочів, змішаній) у суміші з мелясою або ацетатом. Найвищі показники синтезу ЕПС досягалися при використанні змішаної відпрацьованої олії в суміші з мелясою або ацетатом. При цьому кількість синтезованого етаполану досягала 15 та 17 г/л відповідно. Отримані результати підтверджують можливість розробки ефективної технології одержання етаполану для миття резервуарів з-під нафти на суміші дешевих і доступних субстратів (суміш оцтової кислоти та змішаної відпрацьованої олії), собівартість якої у 2—2,7 раза нижча, якщо порівняти з іншими технологіями на змішаній відпрацьованій олії.

Література

1. An C., Ma S., Chang F., Xue W. Efficient production of pullulan by *Aureobasidium pullulans* grown on mixtures of potato starch hydrolysate and sucrose. *Braz. J. Microbiol.* 2017. Vol. 48. P. 180—185.
2. Araujo J., Celis Ariza O. J., De Lima L. A study on production of biodiesel from waste frying oil. *Chem. Engineer. Trans.* 2019. Vol. 74. P. 157—162 doi:10.3303/CET1974027.
3. Mangesh G. K. Waste cooking oils an economical source for biodiesel: a review. *Ind. Eng. Chem. Res.* 2006. Vol. 45, № 90. P. 2901—2913.
4. Mishra B., Zamare D., Manikanta A. Selection and utilization of agro-industrial waste for biosynthesis and hyper-production of pullulan: a review. *Biosynthetic Technology and Environmental Challenges*, Springer: 2018. P. 89—103.

5. Pirog T. P., Ivakhniuk M. O., Voronenko A. A. Intensification of microbial exopolysaccharide ethapolan biosynthesis on mixture of molasses and sunflower oil. *Biotechnol. Acta*. 2017. Vol. 10, № 4. P. 25—33. doi: 10.15407/biotech10.04.025.
6. Schmid J., Farina J., Rehm B., Sieber V. Microbial exopolysaccharides: from genes to application. Lausanne: Frontiers Media, 2016. 163 p. doi: 10.3389/978-2-88919-843-6.
7. Івахнюк М. О., Пирог Т. П. Вплив способу підготовки посівного матеріалу на синтез полісахариду етаполану на олієвмісних субстратах. *Наукові праці НУХТ*. 2015. № 21, т. 5. С. 17—21.
8. Лакин Г. Ф. Биометрия. Москва, 1990. 352 с.
9. Липовий В. О., Удяньський М. М. Техногенні ризики забруднення довкілля під час експлуатування та ремонтних робіт резервуарів з нафтопродуктами: монографія. Харків: НУГЗУ, 2017. 107 с.
10. Пирог Т. П., Корж Ю. В., Лащук Н. В., Зборовська Б. М. Синтез мікробного екзополісахариду етаполану на суміші етанолу і меляси. *Мікробіологічний журнал*. 2006. № 68, т. 3. С. 3—15.
11. Підгоський В. С., Іутинська Г. О., Пирог Т. П. Інтенсифікація технологій мікробного синтезу. Київ, 2010. 327 с.