

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ «ЛЬВІВСЬКА ПОЛІТЕХНІКА»
МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ ТА НАУКИ УКРАЇНИ

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

ЯНВАРЬОВ ЄГОР БОРИСОВИЧ

УДК 604.2:57.083.3:57.087

ДИСЕРТАЦІЯ
БІОІНЖЕНЕРНІ ПІДХОДИ ДО ОПТИМІЗАЦІЇ ПРОЦЕСІВ ОТРИМАННЯ
МІКРОБНИХ ПОЛІМЕРІВ ТА СУРФАКТАНТІВ

Спеціальність 162 – Біотехнології та біоінженерія
Галузь знань 16 – Хімічна та біоінженерія

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело
_____ Январьов Є. Б.

Науковий керівник: Гавриляк Вікторія Василівна, доктор біологічних наук,
старший науковий співробітник

Львів 2025

АНОТАЦІЯ

Январьов Є.Б. Біоінженерні підходи до оптимізації процесів отримання мікробних полімерів та сурфактантів. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 162 Біотехнології та біоінженерія. – Національний університет «Львівська політехніка», Міністерства освіти та науки України, Львів, 2025.

Біоінженерні підходи є потужним інструментом для оптимізації процесів отримання і дослідження продуктів мікробного синтезу, зокрема біосурфактантів (поверхнево-активних речовин) та біополімерів, що є особливо актуальними для сучасної біотехнології. При реалізації таких підходів значне місце займає математичне моделювання та машинне навчання, які дозволяють здійснювати кількісне прогнозування динаміки системи, визначати критичні фактори впливу та підвищувати ефективність біотехнологічних процесів. Застосування моделей для опису росту мікроорганізмів, біосинтезу поверхнево-активних речовин і супутніх метаболітів, а також чутливості до змін температури, рН, концентрації субстратів або режимів аерації, створює передумови для раціонального проектування умов культивування. Відтак, це сприяє зниженню витрат на експерименти, скороченню споживання ресурсів та підвищенню загальної продуктивності виробництва.

Біосурфактанти і біополімери — перспективні продукти мікробного синтезу, які характеризуються високою ефективністю та стабільністю за різних значень рН, температури й вмісту солей. Водночас вони є біодеградабельними й малотоксичними. У світі зростає попит на екологічно безпечні та технологічно ефективні продукти біотехнології у таких галузях, як біомедицина, харчова промисловість, агросектор, відновлення пошкодженого довкілля тощо. Водночас реалізація таких процесів на промисловому рівні ускладнюється через багатофакторну залежність виходу продукту від параметрів середовища, чутливість до змін ферментаційних режимів та високу собівартість живильних

субстратів. Ці виклики формують потребу в системному біоінженерному підході до моделювання, прогнозування та оптимізації біосинтезу.

Сучасні дослідження свідчать, що ефективно вирішення проблем, пов'язаних із промисловим впровадженням процесів мікробного синтезу продуктів біотехнології, потребує не лише класичних біотехнологічних рішень, але й застосування біоінженерних підходів. Вони включають математичне моделювання, комп'ютерний аналіз даних та алгоритмічні підходи до оптимізації. Високоточне прогнозування біосинтезу, виявлення критичних змінних, визначення технологічно доцільних компромісів можливі лише за умови використання сучасних статистичних і машинних методів.

Таким чином, створення та впровадження математичних моделей, здатних не лише описувати біосинтетичні процеси, але й враховувати економічні обмеження та ресурсну ефективність, становить актуальне завдання сучасної біотехнології. Такі біоінженерні підходи дозволяють оптимізувати вихід цільових мікробних продуктів у промислових умовах, сприяючи впровадженню сталих і економічно обґрунтованих рішень.

Метою дисертаційної роботи є розробка, побудова та перевірка біоінженерних моделей біосинтезу мікробних полімерів і сурфактантів із використанням сучасних регресійних та оптимізаційних методів, а також формування підходів до багатокритеріальної оптимізації з урахуванням економічних параметрів середовища.

Об'єктом дослідження є процеси мікробного синтезу поверхнево-активних речовин та полімерів, що продукуються бактеріями *Bacillus subtilis* GSP16, *Pseudomonas* sp. PS-17 та *Rhodococcus ruber* UCM Ac-288.

Предметом дослідження є біоінженерні підходи, що описують залежність виходу біосурфактантів та полігідроксикарбоксилатів (ПГА) від технологічних параметрів процесу ферментації, методи їх регресійного аналізу, оцінки точності та оптимізації. Дослідження впливу складу поживного середовища та умов культивування на утворення біомаси, синтез рамноліпідів, екзополісахаридів та ПГА.

У дисертаційній роботі реалізовано інтегрований підхід, що поєднує аналіз експериментальних даних із математичним моделюванням та багатокритеріальною оптимізацією процесів мікробного синтезу. Експериментальні дані були отримані як у виробничих умовах ТзОВ «КАРПАТОЛ» — для дослідження синтезу біосурфактантів штамом *B. subtilis* GSP16, — так і в лабораторних умовах. Біосурфактанти і біополімери – продукти біосинтезу штамів *Pseudomonas* sp. PS-17 та *R. ruber* UCM Ac-288 отримано у Відділенні фізико-хімії горючих копалин ІнФОВ ім. Л.М. Литвиненка НАН України, відділі хімії і біотехнології горючих копалин.

Моделювання здійснювалося за допомогою трьох підходів: (1) методологія поверхні відгуку (RSM), яку реалізовано для класичного експериментального дизайну, (2) регуляризована модель другого порядку на основі Ridge-регресії для даних, що не відповідають умовам класичного планування експерименту, та (3) GPR, що дозволяє отримати не лише прогноз, але й оцінку невизначеності, з подальшим використанням критеріїв бажаності та очікуваного покращення.

Для реалізації математичних моделей та оптимізаційних процедур використовувалися інструменти мови програмування Python, зокрема бібліотеки `scikit-learn`, `statsmodels`, `scipy.optimize`, а також `matplotlib` і `seaborn` для побудови графіків та візуалізацій. Підготовка даних охоплювала процедури стандартизації, поліноміального розширення ознак та побудову `pipeline`-моделей. Якість моделей оцінювалась на основі метрик LOOCV, коефіцієнта детермінації R^2 , графічного аналізу прогнозованих та реальних значень та аналізу розподілу залишків. Для виконання оптимізації застосовувались як локальні, так і глобальні алгоритми, зокрема метод обмеженої оптимізації L-BFGS-B та диференціальна еволюція.

Уперше запропоновано комплексний підхід до моделювання процесів синтезу біосурфактантів та полігідроксиалканоатів на основі промислових і лабораторних експериментальних даних із використанням сучасних методів машинного навчання, зокрема Ridge-регресії другого порядку та GPR. На відміну від традиційних моделей лінійної регресії, застосування GPR дало змогу не лише здійснювати прогнозування вихідних характеристик, а й кількісно оцінювати

невизначеність моделі, що є критично важливим для планування подальших експериментів та прийняття інженерних рішень.

Для умов, наближених до промислового виробництва біосурфактантів, реалізовано новий підхід, що поєднує багатокритеріальну оптимізацію з економічною оцінкою вартості поживного середовища. Такий підхід дозволив визначити компромісні технологічні умови, що враховують як максимізацію біологічної продуктивності, так і мінімізацію витрат на сировину, забезпечуючи раціональний баланс між ефективністю процесу та його економічною доцільністю.

Реалізовано поєднання регуляризованого поліноміального моделювання на основі Ridge-регресії з використанням агрегованої функції бажаності для трьох вихідних параметрів, що дозволило побудувати стійкі до мультиколінеарності прогностичні моделі на базі експериментальних даних без чіткого дизайну експерименту. Такий підхід забезпечив ефективне узгодження між кількома технологічними цілями та підвищив надійність моделювання. Додатково, у рамках моделі GPR запропоновано застосування об'єднаної карти очікуваного покращення як інструменту для виявлення перспективних зон у просторі факторів, що дає змогу цілеспрямовано планувати подальші експерименти з максимальною ймовірністю покращення результатів.

Результати дисертаційної роботи мають суттєве прикладне значення для біотехнологічної галузі, особливо в контексті оптимізації умов культивування мікроорганізмів-продуцентів біосурфактантів і полігідроксиалканатів. Запропоновані біоінженерні моделі дадуть змогу виробничим підприємствам приймати обґрунтовані рішення на основі кількісних прогнозів, що дозволить зменшити потребу в дорогих і тривалих серіях лабораторних експериментів.

Застосування функції бажаності у поєднанні з алгоритмами багатокритеріальної оптимізації дає змогу враховувати не лише вихід цільових метаболітів, але й економічні параметри, зокрема вартість окремих компонентів середовища, що є критично важливим для промислової реалізації біопроцесів.

Побудовані алгоритмічні рішення реалізовані у вигляді програмних модулів на мові Python із застосуванням відкритих бібліотек, що забезпечує можливість масштабування і повторного використання у схожих біотехнологічних завданнях. Крім того, створені підходи можуть бути адаптовані до процесів культивування інших мікроорганізмів та біотехнологічних продуктів за наявності відповідних експериментальних даних.

У четвертому розділі дисертаційної роботи представлено результати моделювання процесу біосинтезу біосурфактантів на основі даних, отриманих із використанням штаму *B. subtilis* GSP16, культивованого у виробничих умовах. Як біоінженерний підхід до емпіричного аналізу було застосовано методологію поверхні відгуку (RSM), яка дозволила побудувати математичні залежності між п'ятьма ключовими технологічними факторами — температурою, швидкістю перемішування, концентраціями дріжджового екстракту, гліцеролу та показником рН — та рівнем синтезу біосурфактанту.

Побудована модель дала змогу створити контурні діаграми та поверхні відгуку, які чітко відображають нелінійний характер процесу біосинтезу. Візуалізація допомогла виявити області сприятливого поєднання факторів, що забезпечують максимальний вихід біосурфактанту. Згідно з результатами аналізу, найвиразніший позитивний ефект спостерігався при підвищенні концентрації дріжджового екстракту, тоді як відхилення рН від оптимального інтервалу 6,7–7,0 суттєво знижувало продуктивність.

На основі побудованої RSM-моделі реалізовано дві стратегії оптимізації. У першому варіанті здійснювалась однокритеріальна оптимізація, спрямована на максимізацію виходу сирого біосурфактанту, що дозволило отримати прогнозований рівень сирого біосурфактанту 3,29 %. Проте цей варіант передбачав використання дорогих компонентів середовища, що зумовлювало максимальну собівартість. У другому підході застосовано багатокритеріальну оптимізацію на основі зваженої функції бажаності, що дозволило знайти компроміс між економічними витратами та біотехнологічною ефективністю. У результаті вартість середовища було зменшено на 41 %, тоді як вихід сирого

біосурфактанту залишився на високому рівні — 2,88 %, що демонструє доцільність інтеграції економічних критеріїв у процес біоінженерного моделювання.

Доповненням до емпіричного підходу стало кінетичне моделювання збільшення біомаси із застосуванням моделей Моно та Халдейна, що дало змогу підтвердити ефект субстратного інгібування при культивуванні мікроорганізмів на середовищах з високими концентраціями гліцеролу. Поєднання RSM-моделі та кінетичного аналізу забезпечило глибше розуміння процесу та дозволило сформулювати комплексні рекомендації для промислової оптимізації синтезу біосурфактантів.

Застосування регуляризованого поліноміального моделювання на основі Ridge-регресії другого порядку дозволило дослідити вплив концентрацій гліцеролу, натрій нітрату та натрій цитрату на синтез мікробних метаболітів штамом *Pseudomonas* sp. PS-17. Об'єктами моделювання виступали абсолютно суха біомаса (АСБ), рамноліпіди (РЛ) та екзополісахариди (ЕПС), які становлять ключові продукти мікробного синтезу. Підхід забезпечив урахування потенційної мультиколінеарності між компонентами середовища, дозволяючи побудувати узгоджені прогностичні залежності, що відображають біологічну специфіку процесів ферментації.

Застосована оптимізація (диференціальна еволюція) забезпечила визначення оптимальних умов для кожного окремого показника, а також дозволила знайти компромісну точку із високими значеннями всіх трьох метаболітів. Зокрема, в умовах 36,4 г/л гліцеролу, 5,7 г/л натрій нітрату та 3,0 г/л натрій цитрату прогнозовані рівні АСБ, РЛ та ЕПС становили 2,46 г/л, 5,14 г/л та 4,74 г/л відповідно. У порівнянні із середніми значеннями моделей це дало покращення до 24% для РЛ і 22% для АСБ.

Статистичний аналіз моделей (ANOVA) підтвердив значущість основних лінійних факторів для РЛ, зокрема гліцеролу ($p = 0,001$) та нітрату натрію ($p = 0,002$), тоді як для АСБ та ЕПС спостерігалися складніші залежності з впливами квадратичних термінів та взаємодій. Загалом, підхід продемонстрував високу

стабільність при моделюванні складних біотехнологічних процесів на основі обмежених та неструктурованих даних.

У моделюванні біосинтезу ПГА із залученням бактерій роду *Rhodococcus* було застосовано метод GPR, який, попри відсутність класичного планування експерименту, виявив високу ефективність в апроксимації складних біопроцесів. Модель будувалася на основі двох ключових факторів — концентрацій фруктози та натрій нітрату, що виступали регуляторами росту та метаболічної активності. Як вихідні параметри розглядались накопичення біомаси та синтез ПГА, що дало змогу комплексно оцінити поведінку системи в різних умовах культивування.

Моделі створювалися окремо для кожної вихідної змінної з використанням з використанням ядра Matern у поєднанні з WhiteKernel і масштабувальним коефіцієнтом. Перед навчанням усі вхідні дані були нормалізовані. Отримані GPR-моделі дозволили не лише відтворити відомі залежності, а й виявити потенційні області оптимальних умов, які не були охоплені під час первинного експерименту.

Крім побудови прогнозів, здійснено візуалізацію карт невизначеності, що дало змогу окреслити області високої та низької довіри до моделі. На основі аналізу було сформовано графіки функцій бажаності і карт очікуваного покращення, які продемонстрували можливість спрямованого вдосконалення простору експериментальних даних. Багатокритеріальна оптимізація з урахуванням обох цільових показників (біомаса і ПГА) виявила компромісну зону зі значенням функції бажаності 0,948, що свідчить про ефективність застосованого підходу. Отримані результати підтверджують доцільність використання GPR-моделей у біотехнологічних дослідженнях із невеликим обсягом даних.

Розроблені у дисертаційній роботі моделі можуть бути безпосередньо впроваджені на біотехнологічних підприємствах для раціонального підбору складу поживного середовища з урахуванням специфіки цільового продукту. Вони також можуть бути корисними для науковців під час планування та оптимізації експериментальних досліджень у сфері мікробного синтезу.

За результатами досліджень опубліковано 7 наукових праць, у тому числі 3 статті у фахових журналах та 4 тез доповідей.

Ключові слова: біоінженерні підходи, оптимізація процесів біосинтезу, біосурфактанти, полігідроксиалканоати, біологічна активність сполук, математичне моделювання, регресійний аналіз, дисперсійний аналіз, дизайн експерименту, методологія поверхні відгуку (RSM), машинне навчання, Ridge-регресія, поліноміальна регресія, Gaussian Process Regression (GPR), маркетингові дослідження.

ANNOTATION

Yanvarov Y.B. «Bioengineering approaches to optimize the production of microbial polymers and surfactants» is a qualifying scientific work, manuscript.

Dissertation for obtaining the educational and scientific degree for Doctor of Philosophy in specialty 162 Biotechnologies and bioengineering. – Lviv Polytechnic National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Lviv, 2025.

Bioengineering approaches are a powerful tool for optimizing the processes of obtaining and researching microbial synthesis products, particularly biosurfactants (surface-active agents) and biopolymers, which are especially relevant to modern biotechnology. Mathematical modeling and machine learning play a significant role in implementing such approaches, allowing for quantitative forecasting of system dynamics, identification of critical influencing factors, and improvement of the efficiency of biotechnological processes. Using models to describe the growth of microorganisms, the biosynthesis of surface-active substances and associated metabolites, and sensitivity to changes in temperature, pH, substrate concentration, or aeration modes creates the prerequisites for the rational design of cultivation conditions. This helps reduce experimental costs, reduce resource consumption, and increase overall production efficiency.

Biosurfactants and biopolymers are promising products of microbial synthesis, characterized by high efficiency and stability at different pH, temperatures, and salt concentrations. At the same time, they are biodegradable and exhibit low toxicity. There is a growing global demand for environmentally safe and technologically efficient biotechnology products in biomedicine, the food industry, the agricultural sector, environmental remediation, etc. At the same time, implementing such processes on an industrial scale is complicated by the multifactorial dependence of product yield on environmental parameters, sensitivity to changes in fermentation conditions, and the high cost of nutrient substrates. These challenges require a systematic bioengineering approach to modeling, predicting, and optimizing biosynthesis.

Current research shows that effective solutions to problems associated with the industrial implementation of microbial synthesis processes for biotechnology products require not only classical biotechnological approaches but also the application of bioengineering strategies. These include mathematical modeling, computer data analysis, and algorithmic approaches to optimization. Highly accurate prediction of biosynthesis, identification of critical variables, and determination of technologically feasible compromises are only possible with modern statistical and machine methods.

Thus, creating and implementing mathematical models capable of not only describing biosynthetic processes but also considering economic constraints and resource efficiency is a pressing task for modern biotechnology. Such bioengineering approaches allow optimizing the yield of target microbial products under industrial conditions, contributing to implementing sustainable and economically viable solutions.

The dissertation aims to develop, construct, and validate bioengineering models of microbial polymer and surfactant biosynthesis using modern regression and optimization methods, as well as to form approaches to multi-criteria optimization, taking into account the economic parameters of the environment.

The study's object is the microbial synthesis processes of surface-active substances and polymers produced by the bacteria *B. subtilis* GSP16, *Pseudomonas* sp. PS-17, and *R. ruber* UCM Ac-288.

The subject of the study is bioengineering approaches that describe the dependence of the yield of biosurfactants and polyhydroxyalkanoates (PHA) on the technological parameters of the fermentation process, methods of their regression analysis, accuracy assessment, and optimization. The study also investigates the influence of nutrient medium composition and cultivation conditions on the formation of biomass, synthesis of rhamnolipids, exopolysaccharides, and PHA.

The dissertation implements an integrated approach that combines the analysis of experimental data with mathematical modeling and multi-criteria optimization of microbial synthesis processes. Experimental data were obtained both under production conditions at KARPATOL LLC — for the study of biosurfactant synthesis by the *B. subtilis* GSP16 strain — and under laboratory conditions. Biosurfactants and biopolymers

— products of biosynthesis of *Pseudomonas* sp. PS-17 and *R. ruber* UCM Ac-288 strains were obtained at the Department of Physical Chemistry of Fossil Fuels of the Institute of Physical-Organic Chemistry and Coal Chemistry named after L. M. Lytvynenko of National Academy of Sciences of Ukraine, at the Department of Chemistry and Biotechnology of the fossil fuels.

Modeling was performed using three approaches: (1) response surface methodology (RSM), which was implemented for classical experimental design; (2) a regularized second-order model based on Ridge regression for data that does not meet the conditions of classical experimental design, and (3) GPR, which allows not only a forecast but also an assessment of uncertainty, with the subsequent use of desirability criteria and expected improvement.

Python programming language tools were used to implement mathematical models and optimization procedures, particularly the scikit-learn, statsmodels, and scipy.optimize libraries, matplotlib, and seaborn for building graphs and visualizations. Data preparation included standardization procedures, polynomial feature expansion, and pipeline model construction. The quality of the models was evaluated based on LOOCV metrics, the coefficient of determination R^2 , graphical analysis of predicted and actual values, and analysis of the distribution of residuals. Local and global algorithms were used for optimization, including the L-BFGS-B constrained optimization method and differential evolution.

For the first time, a comprehensive approach to modeling the synthesis of biosurfactants and PHA based on industrial and laboratory experimental data using modern machine learning methods, in particular, second-order Ridge regression and GPR, was proposed. Unlike traditional linear regression models, the use of GPR made it possible to predict output characteristics and quantitatively assess model uncertainty, which is critical for planning further experiments and making engineering decisions.

For conditions close to industrial production of biosurfactants, a new approach has been implemented that combines multi-criteria optimization with an economic assessment of the cost of the nutrient medium. This approach made it possible to determine compromise technological conditions that consider both the maximization of

biological productivity and the minimization of raw material costs, ensuring a rational balance between process efficiency and economic feasibility.

A combination of regularized polynomial modeling based on Ridge regression with an aggregated desirability function for three output parameters was implemented, which made it possible to build multicollinearity-resistant predictive models based on experimental data without a clear experimental design. This approach ensured effective coordination between several technological goals and increased modeling reliability. Additionally, within the framework of the GPR model, the use of a combined map of expected improvement as a tool for identifying promising areas in the factor space is proposed, which allows for targeted planning of further experiments with the maximum probability of improving results.

The dissertation results have practical significance for the biotechnology industry, especially in optimizing the conditions for cultivating microorganisms that produce biosurfactants and polyhydroxyalkanoates. The proposed bioengineering models will enable manufacturing enterprises to make informed decisions based on quantitative forecasts, reducing the need for expensive and time-consuming series of laboratory experiments.

The use of the desirability function in combination with multi-criteria optimization algorithms makes it possible to take into account not only the yield of target metabolites but also economic parameters, in particular, the cost of individual components of the environment, which is critically important for the industrial implementation of bioprocesses.

The developed algorithmic solutions are implemented in the form of software modules in Python using open libraries, which ensures scalability and reusability in similar biotechnological tasks. In addition, the approaches developed can be adapted to the cultivation processes of other microorganisms and biotechnological products if the relevant experimental data are available.

The fourth chapter of the dissertation presents the results of modeling the biosynthesis process of biosurfactants based on data obtained using the *B. subtilis* GSP16 strain cultivated under production conditions. As a bioengineering approach to empirical

analysis, the response surface methodology (RSM) was applied, which allowed us to construct mathematical relationships between five key technological factors — temperature, agitation speed, concentrations of yeast extract, glycerol, and pH — and the level of biosurfactant synthesis.

The constructed model made it possible to create contour diagrams and response surfaces reflecting the biosynthesis process's nonlinear nature. Visualization helped identify favorable combinations of factors that ensure maximum biosurfactant yield. According to the results of the analysis, the most pronounced positive effect was observed with an increase in the concentration of yeast extract, while deviations in pH from the optimal range of 6.7–7.0 significantly reduced productivity.

Based on the constructed RSM model, two optimization strategies were implemented. In the first variant, single-criterion optimization was carried out to maximize the yield of crude biosurfactant, which allowed obtaining the predicted level of crude biosurfactant at 3.29%. However, this option involved using expensive medium components, which led to the maximum cost. In the second approach, multi-criteria optimization based on a weighted desirability function was applied, allowing a compromise between economic costs and biotechnological efficiency. As a result, the medium's price was reduced by 41%. In comparison, the yield of crude biosurfactant remained high at 2.88%, demonstrating the feasibility of integrating economic criteria into the bioengineering modeling process.

The empirical approach was supplemented by kinetic modeling of biomass growth using the Monod and Haldean models, confirming substrate inhibition's effect when culturing microorganisms in media with high glycerol concentrations. The combination of the RSM model and kinetic analysis provided a deeper understanding of the process and allowed us to formulate comprehensive recommendations for the industrial optimization of biosurfactant synthesis.

Regularized polynomial modeling based on second-order ridge regression allowed us to investigate the effect of glycerol, sodium nitrate, and sodium citrate concentrations on the synthesis of microbial metabolites by *Pseudomonas* sp. PS-17 strain. The objects of modeling were absolutely dry biomass (ADB), rhamnolipids (RL), and

exopolysaccharides (EPS), which are key products of microbial synthesis. This approach ensured that the potential multicollinearity between medium's components allowed the construction of consistent predictive relationships that reflect the biological specificity of fermentation processes.

The optimization (differential evolution) used ensured the determination of optimal conditions for each indicator and allowed the finding of a compromise point with high values of all three metabolites. In particular, in the presence of 36.4 g/l glycerol, 5.7 g/l sodium nitrate, and 3.0 g/l sodium citrate in the medium, the predicted levels of ASB, RL, and EPS were 2.46 g/l, 5.14 g/l, and 4.74 g/l, respectively. Compared to the average values of the models, this resulted in an improvement of up to 24% for RL and 22% for ASB.

Statistical analysis of the models (ANOVA) confirmed the significance of the main linear factors for RL, in particular glycerol ($p = 0.001$) and sodium nitrate ($p = 0.002$), while for ASB and EPS, more complex dependencies were observed with the influence of quadratic terms and interactions. Overall, the approach demonstrated high stability in modeling complex biotechnological processes based on limited and unstructured data.

In modeling the biosynthesis of PGA by bacteria of the genus *Rhodococcus*, the GPR method was used, which, despite the absence of classical experimental design, proved to be highly effective in approximating complex bioprocesses. The model was based on two key factors—fructose and sodium nitrate concentrations, which regulated growth and metabolic activity. Biomass accumulation and PGA synthesis were considered input parameters, making it possible to comprehensively assess the system's behavior under different cultivation conditions.

Models were created separately for each input variable using the Matern kernel in combination with WhiteKernel and a scaling factor. Before training, all input data were normalized. The resulting GPR models made it possible to reproduce known dependencies and identify potential areas of optimal conditions that were not covered in the initial experiment.

In addition to making predictions, uncertainty maps were visualized, which made it possible to identify areas of high and low confidence in the model. Based on the analysis, graphs of desirability functions and maps of expected improvement were

formed, demonstrating the possibility of targeted improvement of the experimental data space. Multi-criteria optimization, taking into account both target indicators (biomass and PGA), revealed a compromise zone with a desirability function value of 0.948, which indicates the effectiveness of the approach used. The results obtained confirm the feasibility of using GPR models in biotechnology.

The models developed in the dissertation can be directly implemented in biotechnology enterprises for the rational selection of nutrient medium composition, considering the target product's specifics. They can also be helpful for scientists when planning and optimizing experimental research in the field of microbial synthesis.

Based on the research results, seven scientific papers have been published, including three articles in professional journals and four abstracts.

Keywords: bioengineering approaches, optimization of biosynthesis processes, biosurfactants, polyhydroxyalkanoates, biological activity substances, mathematical modeling, regression analysis, dispersion analysis, experimental design, response surface methodology (RSM), machine learning, Ridge regression, polynomial regression, Gaussian Process Regression (GPR), marketing research.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті

1. Yanvarov Y. B., Havryliak V. V. Biosurfactants: structure, functions and productions // *Biotechnologia Acta*. – 2022. – Vol. 15, No 6. – P. 26-35. (Особистий внесок здобувача – аналіз літературних джерел, узагальнення та обробка одержаних результатів, підготовка статті. Внесок Гавриляк В.В. – постановка проблеми, планування завдань, формування висновків).
2. Yanvarov Y. B., Havryliak V. V. MODELING OF BIOSURFACTANT SYNTHESIS USING BACILLUS SPP // *Chemistry, Technology and Application of Substances*. – 2024. – Vol. 7, No. 1. – P. 177-182. (Особистий внесок – участь у постановці завдань та проведенні дослідження, обробка результатів дослідження, проведення *in silico* моделювання, формування висновків, підготовка статті до публікації).
3. Yanvarov Ye. B., Havryliak V. V. MARKET ANALYSIS OF MICROBIAL SURFACTANTS // *Biotechnologia Acta*. – 2024. – Vol. 17, No 5. – P. 5-13. (Особистий внесок – аналіз літературних джерел, узагальнення та обробка одержаних результатів аналізу, узагальнення результатів, оформлення таблиць та графіків, підготовка статті. Внесок Гавриляк В.В. – участь у постановці завдань та проведенні аналізу, формування висновків).

Тези доповідей

4. Январьов Є. Б., Гавриляк В. В. Аналіз можливих математичних підходів до оптимізації мікробного синтезу екзополісахаридів та біосурфактантів // *Біологія тварин*. - 2022. - Т. 24, № 2 : тези доповідей XX Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених, присвяченої 90-річчю від дня народження доктора біологічних наук, професора, члена-кореспондента НААН, заслуженого діяча науки і техніки України Макара Івана Арсентійовича, 19 травня 2022 року, м. Львів. – С. 80.
5. Январьов Є. Б., Гавриляк В. В. Використання методу поверхні відгуку у біотехнології // *Біологія тварин*. - 2023. - Т. 25, № 2 : Тези доповідей XXI

Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених, присвяченої 100-річчю від дня народження доктора біологічних наук, професора Василя Юхимовича Шавкуна, 18-19 травня 2023 року, м. Львів, Україна. – С. 82.

6. Январьов Є. Б., Гавриляк В. В. Вибір математичних моделей для оптимізації отримання біосурфактантів у біотехнології // Chemical and biopharmaceutical technologies: collection of scientific papers. – 2023. – Р. 147-148.

7. Январьов Є. Б., Гавриляк В. В. Модель Моно для оцінювання кінетики росту мікроорганізмів, які продукують поверхнево-активні речовини/ Актуальні питання біотехнології, екології та природокористування : матеріали міжнародної наукової конференції, 25-26 квітня 2024 р. – 2024. – С. 81-82.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	22
ВСТУП.....	23
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	29
1.1. Роль моделювання як біоінженерного підходу в сучасній біотехнології ...	29
1.2. Значення моделювання процесів одержання мікробних полімерів та сурфактантів.....	29
1.3. Класифікація мікробних сурфактантів і біополімерів.....	33
1.4. Особливості біотехнологічного процесу одержання мікробних полімерів та сурфактантів.....	44
1.5. Фактори, що впливають на процес культивування мікробних полімерів та сурфактантів.....	45
1.6. Шляхи застосування мікробних полімерів та сурфактантів.....	47
1.7. Моделювання й оптимізація процесів одержання мікробних полімерів та сурфактантів.....	48
Висновки до розділу 1	54
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	56
2.1. Схема досліджень.....	56
2.2. Об'єкти досліджень – продуценти та умови їх культивування	57
2.3. Методи визначення цільових метаболітів	59
2.4. Підготовка та обробка даних.....	60
2.5. Методи побудови математичних моделей	61
2.6. Методи оцінки точності та діагностики моделей	63
2.7. Візуалізація моделей	64
2.8. Оптимізаційні підходи	65

2.9. Економічне моделювання	67
2.10. Інструменти реалізації математичних моделей.....	68
РОЗДІЛ 3. МАРКЕТИНГОВИЙ АНАЛІЗ РИНКУ БІОПОЛІМЕРІВ І СУРФАКТАНТІВ ТА ОБҐРУНТУВАННЯ ОПТИМІЗАЦІЇ ЇХ ВИРОБНИЦТВА..	70
3.1 Маркетингові дослідження ринку біосурфактантів	70
3.2 Аналіз виробництва та використання біогенних поверхнево активних речовин в Україні.....	81
Висновки до розділу 3	84
РОЗДІЛ 4. БАГАТОЦІЛЬОВА ОПТИМІЗАЦІЯ ВИРОБНИЦТВА БІОСУРФАКТАНТІВ ШТАМОМ <i>Bacillus subtilis</i> GSP16 З УРАХУВАННЯМ ЕКОНОМІЧНОЇ ЕФЕКТИВНОСТІ.....	86
4.1. Експериментальна база для моделювання.....	87
4.2. Побудова моделі з використанням методології поверхні відгуку (RSM)...	89
4.3. Інтерпретація впливу окремих факторів.....	91
4.4. Побудова та аналіз поверхонь відгуку	92
4.5. Оптимізація умов без урахування економічних показників	94
4.6. Багатокритеріальна оптимізація з урахуванням вартості	95
4.7. Кінетичне моделювання росту культури	98
Висновки до розділу 4	100
РОЗДІЛ 5. АЛЬТЕРНАТИВНІ ПІДХОДИ ДО ОПТИМІЗАЦІЇ БІОСИНТЕЗУ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН І ПОЛІМЕРІВ БЕЗ ЗАСТОСУВАННЯ ДИЗАЙНУ ЕКСПЕРИМЕНТУ	102
5.1. Загальна характеристика альтернативних експериментальних підходів .	102
5.2. Моделювання та оптимізація синтезу біосурфактантів штамом <i>Pseudomonas</i> sp. PS-17.....	103

5.3. Моделювання та оптимізація синтезу ПГА штамом <i>R. ruber</i> UCM Ac-288	119
5.4. Порівняльний аналіз методів та рекомендації щодо вибору підходу	131
Висновки до розділу 5	132
РОЗДІЛ 6. РОЗРОБЛЕННЯ ОСНОВ ТЕХНОЛОГІЇ ОДЕРЖАННЯ БІОСУРФАКТАНТІВ.....	134
6.1. Принципова технологічна схема процесу отримання продуктів <i>Pseudomonas</i> sp. PS-17.....	134
6.2. Опис технологічного процесу одержання продуктів <i>Pseudomonas</i> sp. PS-17	135
ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ.....	144
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	146
ДОДАТКИ	168
ДОДАТОК А	169
ДОДАТОК Б.....	171
ДОДАТОК В.....	172
ДОДАТОК Г	177
ДОДАТОК В.....	181

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АСБ – абсолютно суха біомаса

РЛ – рамноліпіди

ЕПС – екзополісахариди

ПГА – полігідроксисилканоати

КР – культуральна рідина

FFD – Full Factorial Design (повний факторний дизайн)

CCD – Central Composite Design (центрально-композитний дизайн)

BBD – Box-Behnken Designs (дизайн Бокса-Бенкена)

CCF – Central Centered Face (центрально-центрована грань)

GPR – Gaussian Process Regression (регресія на основі гаусових процесів)

RSM – Response Surface Methodology (методологія поверхні відгуку)

OLS – Ordinary Least Squares (метод найменших квадратів)

LOOCV – Leave-One-Out Cross-Validation (перехресна перевірка з виключенням одного спостереження)

RMSE – Root Mean Square Error (корінь середньоквадратичної похибки)

MAE – Mean Absolute Error (середня абсолютна похибка)

MAPE – Mean Absolute Percentage Error (середня абсолютна відносна похибка)

R^2 – коефіцієнт детермінації

EI – Expected Improvement (очікуване покращення)

PDP – Partial Dependence Plot (графік часткової залежності)

in silico – комп'ютерне моделювання

scikit-learn – Python-бібліотека для машинного навчання

statsmodels – Python-бібліотека для статистичного моделювання

scipy.optimize – модуль для числової оптимізації в Python

pipeline – послідовна структура для автоматизації обробки та моделювання даних

ВСТУП

Актуальність теми. Сучасна біотехнологія та біоінженерія активно рухається у напрямку розвитку сталих рішень, які базуються на використанні мікроорганізмів для синтезу цільових сполук із високою доданою вартістю. Серед таких продуктів особливе місце посідають мікробні полімери та поверхнево-активні речовини (біосурфактанти). Їхні переваги — біорозкладаність, низька токсичність, широкий спектр біологічної активності та потенціал масштабування в різних галузях промисловості, включаючи медицину, харчову промисловість, агротехнології та нафтовидобуток.

Незважаючи на високий науковий та практичний інтерес до біогенних поверхнево активних речовин, використання класичних біотехнологічних підходів не забезпечує ефективного проектування умов культивування, які є визначальними для підвищення продуктивності процесів. Біосинтез таких сполук тісно пов'язаний з особливостями росту бактерій-продуцентів, складом поживного середовища, співвідношенням джерел вуглецю та азоту, умов культивування, а також взаємодією між факторами. Проведення великої кількості лабораторних експериментів для пошуку оптимальних умов є дороговартісним і часозатратним.

У цьому контексті біоінженерні підходи, що поєднують експериментальні дані з математичним моделюванням та методами машинного навчання, набувають особливого значення. Вони дають змогу кількісно описати біопроцеси, передбачити поведінку бактерій-продуцентів у різних умовах і оптимізувати вихід цільових метаболітів при мінімальних витратах. Особливої актуальності набувають інструменти, що здатні працювати з обмеженим числом експериментальних точок і враховувати взаємодію низки факторів. Вони також дають змогу оцінювати рівень прогнозованої невизначеності, що є важливим для планування подальших експериментів.

Таким чином, розробка інтегрованих біоінженерних підходів, що поєднують математичне моделювання з експериментальними даними, є актуальним завданням для сучасної біотехнології. Такі підходи сприяють підвищенню ефективності

біосинтезу полімерів та сурфактантів, а також забезпечують можливість оптимізації процесів за допомогою сучасного інструментарію Data Science.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційне дослідження виконане відповідно до плану науково-дослідних робіт кафедри технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка» в рамках теми «Створення нових лікарських засобів фіто- та біопрепаратів» (№ держреєстрації 0119U101957).

Мета та завдання дослідження. Розроблення біоінженерних підходів до оптимізації процесів синтезу мікробних полімерів і сурфактантів шляхом побудови, оцінки точності та застосування моделей, з урахуванням особливостей експериментальних умов, економічних факторів та невизначеності даних, з подальшим формуванням практичних рекомендацій для покращення виходу цільових метаболітів.

Для досягнення поставленої мети були сформульовані наступні завдання дослідження:

1. Провести аналіз сучасного стану досліджень у галузі біотехнології мікробних біосурфактантів та полімерів. Виконати маркетинговий аналіз ринку сурфактантів. Дослідити сучасні біоінженерні підходи до оптимізації біопроцесів.
2. Розробити моделі з використанням методології поверхні відгуку (RSM) для опису впливу ключових параметрів середовища на синтез мікробних продуктів із урахуванням економічного ефекту. Оцінити ефективність створених моделей для подальшої оптимізації біотехнологічних процесів.
3. Реалізувати регуляризоване моделювання (Ridge-регресію) для підвищення надійності моделей процесу синтезу мікробних продуктів в умовах наявності взаємозалежностей між параметрами поживного середовища.
4. Застосувати регресію на основі гаусових процесів (GPR) для створення моделей у випадках обмежених експериментальних даних, із можливістю кількісного аналізу прогнозованої невизначеності.

5. Розробити підходи до однокритеріальної та багатокритеріальної оптимізації вихідних показників процесу біосинтезу, зокрема з урахуванням економічних параметрів та функцій бажаності.
6. Провести порівняльний аналіз ефективності використаних моделей та надати рекомендації щодо вибору методів для подібних біотехнологічних задач.
7. Створити програму для моделювання й оптимізації процесів біосинтезу з урахуванням технологічних і економічних параметрів.

Об'єктом дослідження є біотехнологічні процеси мікробного синтезу поверхнево-активних речовин (біосурфактантів) та біополімерів (полігідроксиалканоатів), що реалізуються із залученням різних штамів мікроорганізмів за контрольованих умов культивування.

Предметом дослідження є біоінженерні моделі процесів мікробного синтезу, що описують залежності між складом поживного середовища, умовами культивування та виходом цільових метаболітів — абсолютно сухої біомаси (АСБ), рамноліпідів (РЛ), екзополісахаридів (ЕПС) і полігідроксиалканоатів (ПГА). Для цього використовувалися: методологія поверхні відгуку (RSM), регуляризована поліноміальна регресія другого порядку (Ridge) та регресія на основі гаусових процесів (GPR), які дали змогу створити інтерпретовані моделі з хорошою прогнозною здатністю для подальшої оптимізації біопроцесів.

Методи досліджень. Для виконання поставлених завдань використано комплекс сучасних методів: біоінженерні (аналіз умов культивування, інтерпретація залежностей між складом середовища та виходами продукції, визначення потенціалу масштабування), математичні (побудова моделей синтезу мікробних біопродуктів з використанням методології поверхні відгуку, регуляризованою поліноміальною регресією та Gaussian Process Regression), статистичні (оцінка точності моделей за допомогою R^2 , RMSE, MAE, LOOCV, аналіз дисперсії), оптимізаційні (реалізація однокритеріальної та багатокритеріальної оптимізації на основі функції бажаності, з урахуванням економічних обмежень), а також програмні (створення програмних рішень у середовищі Python із застосуванням бібліотек scikit-learn, statsmodels, scipy, matplotlib, seaborn).

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше застосовано три типи моделей: методологія поверхні відгуку (RSM), регуляризована поліноміальна Ridge-регресія та регресія на основі гаусових процесів (GPR) — для оцінки відгуку біосинтезу цільових продуктів (полімерів та сурфактантів) на зміни параметрів середовища.

Запропоновано застосування GPR-моделі для кількісного аналізу невизначеності у прогнозах та побудови карт очікуваного покращення (expected improvement), що раніше не використовувалось у дослідженні подібних біотехнологічних систем.

Побудовано моделі з використанням функцій бажаності, які дозволяють проводити багатокритеріальну оптимізацію не лише з урахуванням продуктивності, а й вартості середовищ, що забезпечує кращу прикладну адаптацію результатів для умов реального виробництва.

Проведено біоінженерну апробацію розроблених моделей на основі експериментальних даних, отриманих з використанням трьох штамів продуцентів — *B. subtilis* GSP16, *Pseudomonas* sp. PS-17 та *R. ruber* UCM Ac-288 — із подальшим порівнянням результатів оптимізації і визначенням ефективності кожного підходу.

Запропоновано інтеграцію економічної моделі до загальної системи прогнозування, що дало змогу визначити компроміс між максимізацією продукції та мінімізацією витрат.

Практичне значення дисертаційної роботи полягає у створенні адаптивної біоінженерної методології аналізу, моделювання та оптимізації процесів біосинтезу мікробних метаболітів. Запропонований підхід може бути ефективно використаний як у науково-дослідних лабораторіях, так і при масштабуванні процесів до рівня промислових біотехнологій. Побудовані моделі та їх програмна реалізація дають змогу:

- Прогнозувати вихід біологічно активних речовин (біосурфактанту, АСБ, РЛ, ЕПС, ПГА) залежно від концентрацій вхідних компонентів поживного середовища, що суттєво знижує потребу у великій кількості фізичних експериментів.
- Використовувати побудовані моделі як інструмент для вибору оптимальних умов культивування, забезпечуючи ефективне планування експериментів.

- Здійснювати багатокритеріальну оптимізацію з урахуванням не лише продуктивності, а й економічної доцільності, що дозволяє приймати обґрунтовані управлінські рішення при плануванні нових біотехнологічних процесів.
- Використовувати карти невизначеності та функції бажаності для планування подальших експериментів, зменшуючи ризики та покращуючи відтворюваність результатів.

Інструментарій моделювання реалізовано у вигляді Python-скриптів на базі відкритих бібліотек, що дозволяє інтегрувати його у біоінженерні підходи до розробки, оптимізації та аналізу процесів мікробного синтезу з високою гнучкістю адаптації.

Результати дисертаційного дослідження застосовують у науковому та навчальному процесі на кафедрі технології біологічно активних речовин, фармації та біотехнологій Національного університету «Львівська політехніка», кафедрі біотехнології та радіології Львівського Національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Ґжицького, в експериментальних дослідженнях відділу хімії і біотехнології Відділення фізико-хімії горючих копалин ІнФОВ ім. Л.М. Литвиненка НАН України та на виробництві ТзОВ «Карпатол», що підтверджено відповідними документами.

Особистий внесок здобувача. Дисертантом самостійно здійснено:

- аналіз літературних джерел щодо біотехнологічних підходів синтезу біосурфактантів та мікробних полімерів;
- маркетингове дослідження світового та українського ринку біосурфактантів;
- обробку експериментальних даних, у тому числі їх перевірку та візуалізацію;
- проектування архітектури обробки біотехнологічних даних та реалізація моделей (RSM, Ridge-регресія, GPR) для опису і оптимізації процесів мікробного синтезу;
- аналіз якості моделей, зокрема проведено оцінку точності, LOOCV та оцінку невизначеності;
- реалізацію підходів до оптимізації (однокритеріальної, багатокритеріальної, економічної);
- порівняльну оцінку ефективності методів та формулювання висновків.

Постановку завдань, планування, аналіз та обговорення результатів, висновків роботи проводились з науковим керівником – д.б.н., проф. Гавриляк В.В.

Експериментальні дані щодо біосурфактантів і біополімерів – продуктів біосинтезу штамів *Pseudomonas* sp. PS-17 та *R. ruber* UCM Ac-288 (з колекції мікроорганізмів Відділення фізико-хімії горючих копалин ІнФОВ ім. Л.М. Литвиненка НАН України) отримано у відділі хімії і біотехнології.

Експериментальні дані щодо синтезу біосурфактантів продуцентом *B. subtilis* GSP16 одержані в виробничій лабораторії підприємства ТзОВ «КАРПАТОЛ».

Апробація результатів дисертації. Основні положення та результати дисертаційної роботи були апробовані на низці всеукраїнських та міжнародних науково-практичних конференцій.

Результати досліджень були представлені на XX (2022) та XXI (2023) Всеукраїнських науково-практичних конференціях молодих вчених, де здобувач презентував результати аналізу математичних підходів до оптимізації мікробного синтезу біосурфактантів, а також застосування методології поверхні відгуку. Окрему увагу було приділено вибору моделей для опису процесів отримання поверхнево-активних сполук, що висвітлено у матеріалах збірника *Chemical and Biopharmaceutical Technologies* (2023). Результати моделювання кінетики росту мікроорганізмів із використанням моделі Моно були представлені на міжнародній конференції *Актуальні питання біотехнології, екології та природокористування* (2024).

Публікації. За результатами роботи опубліковано 7 наукових праць, у тому числі 3 статті у наукових фахових виданнях України за спеціальністю 162 Біотехнології та біоінженерія; 4 тези доповідей – опублікованих на науково-практичних конференціях.

Структура і обсяг дисертації. Дисертаційна робота складається зі вступу, шести розділів, загальних висновків, списку 178 використаних джерел літератури (з них 9 кирилицею та 169 латиною) та додатків. Обсяг основного тексту роботи становить 200 сторінок і містить 11 таблиць та 31 рисунок.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Роль моделювання як біоінженерного підходу в сучасній біотехнології

Моделювання є ключовим інструментом у сучасній біотехнології, оскільки дозволяє кількісно описувати складні біологічні процеси, оцінювати взаємозв'язки між змінними та прогнозувати поведінку систем без необхідності проведення великої кількості експериментів. В умовах зростання складності біотехнологічних систем та необхідності економії ресурсів, моделювання стає не лише інструментом розуміння, а й засобом оптимізації процесів на всіх етапах — від лабораторного аналізу до масштабування виробництва [1, 2].

Моделі можуть мати емпіричну природу, коли вони базуються виключно на експериментальних даних, або бути механістичними, якщо вони враховують біохімічні закономірності та кінетичні рівняння [3]. Крім того, застосування штучного інтелекту та машинного навчання дозволяє будувати адаптивні моделі, здатні враховувати складні нелінійні взаємодії між параметрами, які складно описати аналітично [4].

На тлі зростання доступності обчислювальних ресурсів моделювання трансформується з допоміжного інструмента на рівноправну частину біотехнологічного дослідження. Його використання дозволяє не лише глибше зрозуміти природу процесів, а й створювати технології з передбачуваною ефективністю та стабільністю [5, 6, 7].

Значення цього підходу особливо зростає у випадках, коли кількість експериментальних даних є обмеженою, а потреба в точності — критичною. Саме тому моделювання є необхідною складовою сучасної наукової стратегії в біотехнології [8, 9].

1.2. Значення моделювання процесів одержання мікробних полімерів та сурфактантів

Мікробні полімери та біосурфактанти представляють собою функціонально цінні сполуки з широким спектром застосування — від екологічно безпечних

миючих засобів і біопестицидів до медичних матеріалів, біоплівок та носіїв для ліків [10, 11, 12]. Їх біосинтез залежить від численних взаємопов'язаних факторів, зокрема складу поживного середовища, параметрів культивування, типу штаму та стадії росту мікроорганізму [13]. У такій складній системі моделювання відіграє критичну роль, оскільки дозволяє охопити багатовимірну природу процесу та виявити оптимальні умови для максимального виходу продукту.

Однією з ключових переваг моделей у цьому контексті є можливість прогнозувати поведінку біосистеми при зміні одного або кількох параметрів без проведення додаткових експериментів. Це дозволяє значно скоротити кількість необхідних лабораторних досліджень, особливо на ранніх етапах оптимізації. Наприклад, моделі на основі методології поверхонь відгуку або кінетичних рівнянь (типу Моно, Халдейна, Людекінга-Пірета) дозволяють формалізовано описати залежність виходу від концентрацій субстратів, рН, температури та інших умов [14].

У разі полімерів, що синтезуються внутрішньоклітинно, особливе значення мають моделі, які враховують фазу росту біомаси, тип вуглецевих джерел і перехід до синтезу вторинних метаболітів [15]. Аналогічно, для біосурфактантів, які часто продукуються як відповідь на стресові умови, моделювання дозволяє не лише кількісно охарактеризувати динаміку накопичення, але й виявити критичні порогові значення, при яких запускаються механізми продукції [16].

Стандартизовані моделі дають змогу ідентифікувати ефективність продукування, адаптивність до умов середовища та потенціал до масштабування [17]. Це особливо актуально в контексті біоінженерії, де генетично модифіковані штами потребують попередньої *in silico* оцінки їх продуктивності перед експериментальною перевіркою.

Ще одним важливим аспектом є використання моделей для економічного аналізу виробництва. На основі змодельованих кривих росту, продукції та витрат компонентів середовища можна побудувати функцію вартості процесу, що дає змогу знаходити не лише технічно ефективні, а й економічно доцільні умови культивування.

Таким чином, роль моделювання у дослідженні біосурфактантів і мікробних полімерів є багатогранною: воно не лише формалізує біотехнологічні процеси, а й поглиблює їхнє розуміння, сприяє оптимізації, інженерному вдосконаленню та практичному впровадженню результатів у прикладні біотехнологічні рішення.

Переваги та обмеження біоінженерного моделювання синтезу мікробних продуктів. Моделювання біосинтезу мікробних полімерів і біосурфактантів надає унікальні можливості для керованого дослідження складних біотехнологічних процесів. Його основна перевага полягає в здатності імітувати поведінку мікробної системи в широкому діапазоні умов без потреби в проведенні великої кількості реальних експериментів. Це дозволяє скоротити витрати часу, ресурсів та реактивів, а також пришвидшити перехід від лабораторних досліджень до дослідно-промислового виробництва.

Моделі дозволяють аналізувати вплив окремих факторів на кінцевий вихід продукту, виявляти синергічні чи антагоністичні ефекти, а також оцінювати динаміку системи в реальному або симульованому часі. Наприклад, моделі можуть вказати, як зміна концентрації джерела вуглецю чи азоту впливає на швидкість накопичення біосурфактанту, або як рН та температура впливають на синтез ПГА [18, 19]. Такий підхід особливо корисний для планування експериментів та створення біопроцесів зі стабільною продуктивністю.

Водночас моделювання має низку обмежень. По-перше, точність моделей сильно залежить від якості експериментальних даних: недостатньо репрезентативні або зашумлені дані можуть призводити до хибних висновків. По-друге, біосинтетичні процеси за своєю природою є складними, нелінійними та багатфакторними, що ускладнює побудову адекватної аналітичної моделі без суттєвих спрощень. По-третє, деякі параметри (наприклад, внутрішньоклітинна регуляція, енергетичні витрати, рівень транскрипції) є важкими для прямого вимірювання, що знижує точність відображення реальної поведінки системи.

Іншим важливим викликом залишається проблема надмірної підгонки моделі до навчальних даних (перенавчання), що особливо актуально для емпіричних

моделей, зокрема при використанні методів машинного навчання [20]. Моделі, які добре узгоджуються з навчальним набором даних, можуть не відображати поведінку в нових умовах. Це потребує ретельного підходу до оцінювання якості моделей, із застосуванням методів перехресної перевірки та зовнішніх тестових даних для об'єктивної оцінки їх здатності до узагальнення.

Незважаючи на зазначені обмеження, моделювання залишається потужним інструментом для формування гіпотез, виявлення прихованих закономірностей і підтримки прийняття рішень у біотехнологічних дослідженнях. Його ефективність значною мірою визначається правильним вибором типу моделі, якістю вхідних даних і рівнем біологічного розуміння процесу, що моделюється.

Типи моделей біосинтезу мікробних продуктів. У дослідженнях біосинтезу мікробних полімерів і біосурфактантів застосовуються різні типи біоінженерних підходів до моделювання — від простих емпіричних рівнянь до складних механістичних чи гібридних моделей. Вибір конкретного підходу визначається обсягом і якістю наявних даних, цілями дослідження та рівнем деталізації, необхідним для адекватного опису й розуміння процесу.

Емпіричні моделі засновані на статистичному описі спостережуваних даних без урахування глибинних біохімічних механізмів. Найчастіше вони представлені у вигляді поліноміальних рівнянь або поверхонь відгуку (наприклад, методом центрально-комполітного дизайну або Бокса-Бенкена). Такі моделі надійні та зручні для оптимізації умов культивування, коли потрібно знайти максимальні значення виходу продукту за обмеженої кількості експериментів. Проте вони погано переносяться на умови поза межами експериментального простору [21].

Кінетичні моделі описують швидкість росту клітин та синтезу продуктів на основі диференційних рівнянь. Наприклад, модель Моно застосовується для опису впливу субстрату на швидкість росту, модель Халдейна — для врахування інгібування при надлишку субстрату, а модель Людекінга–Пірета — для розділення фаз росту та продукції метаболітів. Такі моделі краще відображають динаміку процесу в часі та дозволяють імітувати поведінку біосистеми під дією змінних

факторів. Їх недоліком є необхідність точного визначення параметрів, що часто вимагає додаткових експериментальних досліджень [22].

Структурно-механістичні моделі, або метаболічні моделі, ґрунтуються на мережах біохімічних реакцій та стехіометричних співвідношеннях. Вони дозволяють відтворювати повну картину внутрішньоклітинного метаболізму та аналізувати вплив генетичних або ферментативних змін на продуктивність системи. Такий підхід активно застосовується в синтетичній біології та метаболічній інженерії для оптимізації продукування цільових речовин [23].

Моделі на основі машинного навчання дедалі частіше застосовуються для аналізу багатовимірних даних, таких як часова динаміка, спектроскопічні сигнали, умови середовища, а також в геноміці та метаболоміці. Вони добре працюють у задачах класифікації, прогнозування та оптимізації, особливо коли відсутнє чітке аналітичне уявлення про систему [24].

Таким чином, сучасні біоінженерні підходи до моделювання процесів синтезу мікробних полімерів і біосурфактантів базуються на широкому спектрі методів. Ефективна стратегія часто полягає не у виборі одного підходу, а в раціональному комбінуванні моделей для досягнення як високої точності прогнозування, так і належної біологічної інтерпретованості результатів.

1.3. Класифікація мікробних сурфактантів і біополімерів

Класифікація біоПАР базується на основі мікробного джерела і їх хімічних компонентів. Також їх можна поділити на низькомолекулярні (гліколіпіди, ліпопептиди, фосфоліпіди) і високомолекулярні ПАР (полімерні та тверді) [25].

Переважаюча більшість наразі відомих біоПАР відносяться до гліколіпідів. Це вуглеводи, з'єднані з довголанцюговими аліфатичними або гідроксиаліфатичними кислотами. Найпоширенішими серед групи гліколіпідів є рамноліпіди, трегалозоліпіди та софороліпіди.

Рамноліпіди мають одну або дві молекули рамнози, що зв'язується з однією або двома молекулами β -гидроксидеканової кислоти (Рис. 1.1). Вони відносяться до

найкраще вивчених гліколіпідів. Рамноза, як структурна частина гліколіпідів, синтезується в *Pseudomonas aeruginosa* за специфічним біохімічним шляхом. [26].

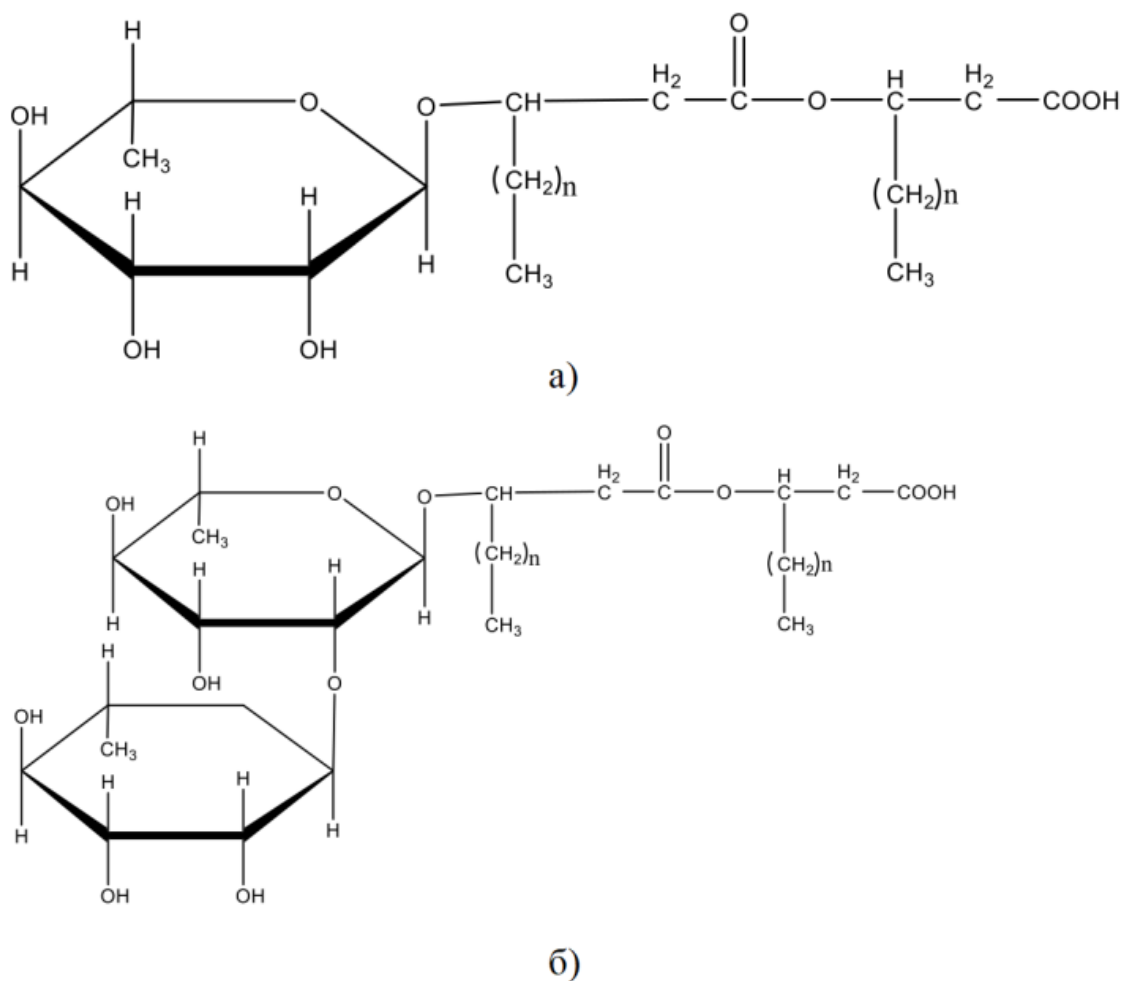


Рис 1.1. Структурні формули рамноліпідів:

а) монорамноліпід; б) дирамноліпід [27]

Трегалозоліпіди мають лише декілька структурних типів (Рис. 1.2). Дисахарид трегалоза, пов'язаний у положенні С-6 і С-6' з міколовими кислотами, характерний для більшості видів *Nocardia*, *Mycobacterium* і *Corynebacterium*. Трегалозоліпіди цих організмів різняться за структурою міколової кислоти, розміром, кількістю атомів вуглецю та ступенем ненасиченості [28].

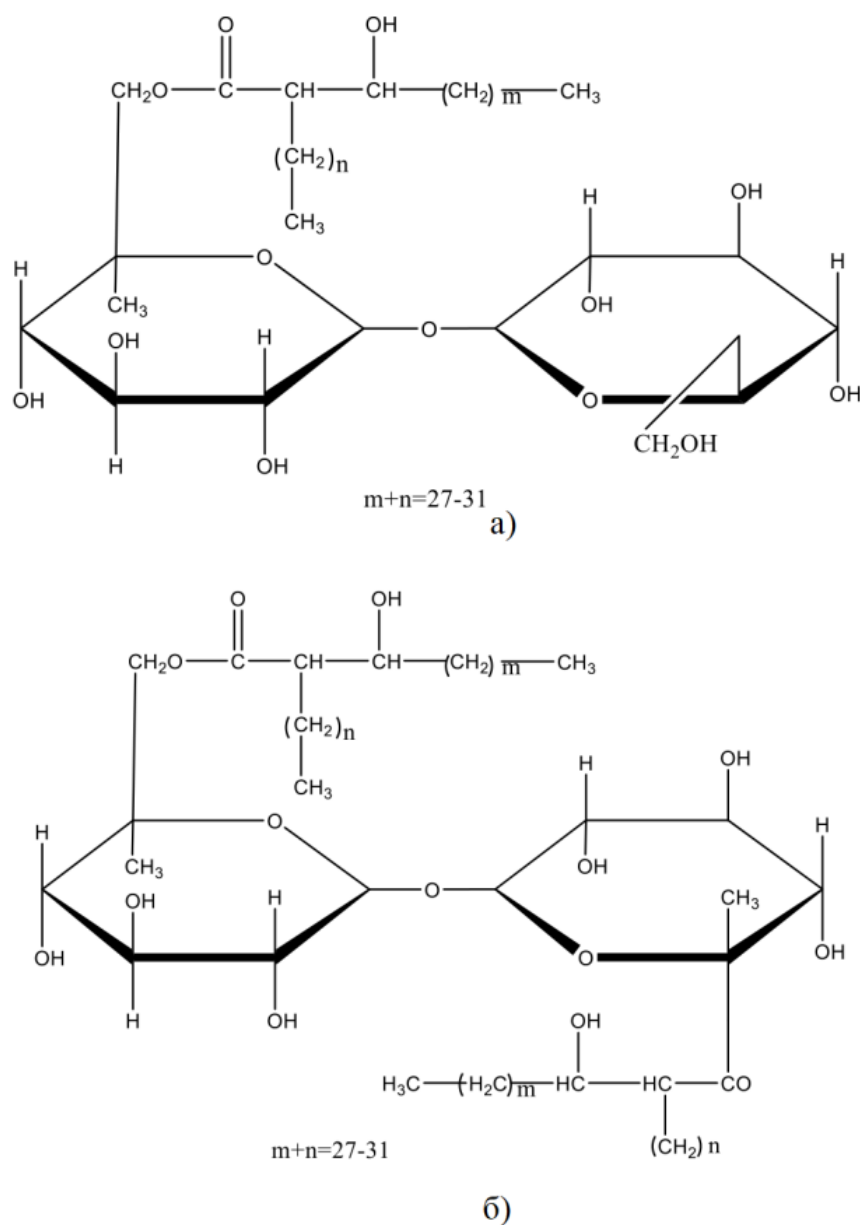


Рис 1.2. Структурні формули трегалозоліпідів:

а) мономіколати трегазоли; б) диміколати трегазоли [27]

Софороліпіди переважно продукуються дріжджами, наприклад, *Torulopsis bombicola*, *Torulopsis petrophilum*. Димерний вуглевод софороза зв'язується з довголанцюговою гідроксигірною кислотою (Рис. 1.3). Софороліпіди є сумішшю шести-дев'яти різних гідрофобних софорозидів [28].

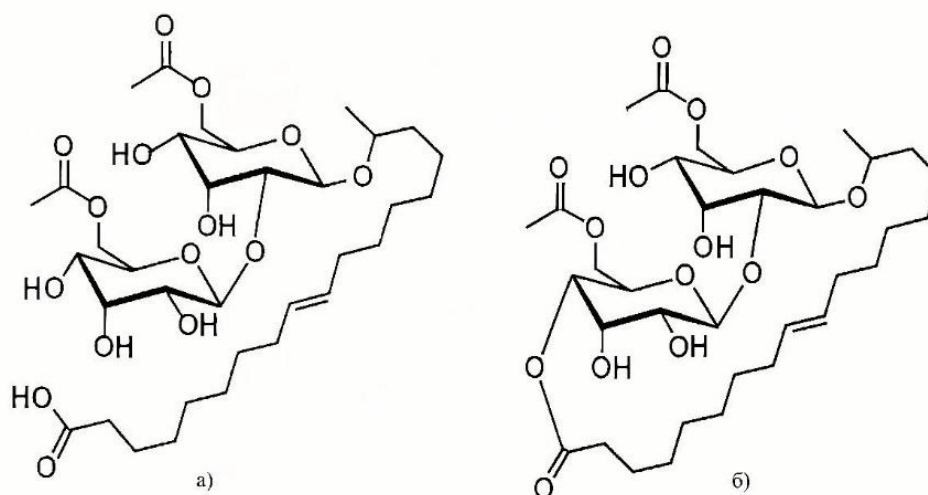


Рис 1.3. Структурні формули софороліпідів: а) кислі; б) лактонні [29]

У таблиці 1.1 подана узагальнена інформація про основні продуценти біосурфактантів та їх основні сфери застосування.

Таблиця 1.1

Продуценти біоПАР та сфери їх застосування

№	Поверхнево-активні речовини	Штам/продуцент	Сфера застосування	Посилання
1	Рамноліпіди	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Видобуток нафти	[30]
2	Рамноліпіди	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Bacillus subtilis</i> SPB1	Миючі засоби (видалення плям)	[31, 32]
3	Рамноліпіди	<i>Lysinibacillus sphaericus</i> ИТР51	Антимікробна дія (здатність до розчинення гідрофобних пестицидів)	[33]
4	Софороліпіди	<i>Starmerella bacillaris</i>	Виноробство	[34]
5	Трегалозоліпіди	<i>Rhodococcus fascians</i> BD8	Антимікробна та антиадгезивна активність проти патогенних бактерій	[35]

6	Софороліпіди	<i>Candida bombicola</i>	Антивірусна активність	[36]
7	Рамноліпіди	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> S2	Біоремедіація забруднених нафтопродуктам и ділянок	[37]
8	Рамноліпіди	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> BS20	Біоремедіація ділянок, забруднених вуглеводнями	[37]
9	Рамноліпіди	<i>Pseudoxanthomonas sp.</i> PNK-04, <i>Pseudomonas alcaligenes</i>	Екологічне застосування	[37]
10	Рамноліпіди	<i>Pseudomonas cepacia</i> CCT6659	Біоремедіація морського та ґрунтового середовища	[37]
11	Софороліпіди	<i>Candida lipolytica</i> UCP0988	Видалення нафти та моторного масла із піску	[37]
12	Трегалозоліпіди	<i>Rhodococcus erythropolis</i> 3C-9	Ліквідація розливів нафти	[37]
13	Трегалозоліпіди	<i>Rhodococcus erythropolis</i> B7g	Біоремедіація	[38]

Рамноліпіди. Рамноліпіди складаються з β -гідрокси жирної кислоти, з'єднаної карбоксильним кінцем із молекулою цукру рамнози. Частіше за все вони продукуються *Pseudomonas aeruginosa*. Рамноліпіди можна розділити на моно- та дирамноліпіди. Основними продуцентами рамноліпідів є бактерії роду *Pseudomonas*: *P. chlororaphis*, *P. fluorescens*, *P. plantarii*, *P. putida*. Серед відомих нам бактерій є ті, які синтезують моно- та ди-рамноліпіди, а є такі, які продукують лише моно-рамноліпіди [39].

Найкраще синтез рамноліпідів вивчений для штамів *Pseudomonas* [40]. Літературні дані свідчать, що різні джерела вуглецю можуть бути основними попередниками для біосинтезу рамноліпідів, саме тому різні штами *Pseudomonas* продукують варіанти рамноліпідів [41]. Біосинтез рамноліпідів включає три основні етапи, які призводять до утворення dTDP-1-рамнози та β -гідроксижирної кислоти [42]. На I етапі β -гідроксидеканоїл переноситься ензимом RhlA, на коензим А, в результаті чого утворюється β -гідроксидеканоїл-КоА - проміжний продукт у синтезі жирних кислот *de novo* [43]. RhlA забезпечує утворення ліпідної частини рамноліпиду - β -гідроксидеканоїл- β -гідроксидеканоату, використовуючи шлях синтази жирних кислот II типу. Попередник, dTDP-1-рамноза, яка забезпечує глікозильну частину рамноліпідів, може синтезуватися шляхом глюконеогенезу або Ентнера–Дудорофа, а гени *algC* та *rmlBDAC* оперон контролюють біосинтез dTDP-1-рамнози [40]. Два попередники, dTDPI-рамноза та β -гідроксижирні кислоти конденсуються в моно-рамноліпід та ди-рамноліпід за допомогою ензимів рамнозилтрансферази I (RhlB) та рамнозилтрансферази II (RhlC) відповідно. Рамнозилтрансфераза I (RhlB) і рамнозилтрансфераза II (RhlC) кодуються генами *rhlB* та *rhlC* відповідно, а гени *lasRI* і *rhlRI* відповідають за активацію експресії генів *rhlAB* і *rhlC* [44].

Активне вивчення та біотехнологічна оптимізація шляхів синтезу рамноліпідів суттєво розширили їхнє застосування в різних галузях промисловості. Цьому також сприяли їх біодеградабельність та біосумісність, а також доступність сировини для синтезу [39].

Усього можна виділити п'ять основних напрямів застосувань рамноліпідів, які задовольняють широке коло промислових потреб:

Чистячі та мийні засоби: рамноліпід є природними емульгаторами, тому це призвело до їх широкого використання в складі мийних засобів, мила, шампунів, пральних засобів, тощо [45].

Фармацевтичні засоби: рамноліпід низько токсичні, та демонструють антимікробну активність проти мікробів *Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* [46].

Косметичні засоби: рамноліпіди, в якості активного інгредієнту можуть ефективно використовуватись для лікування шкіри, зокрема, опіків, загоєння ран, а також для усунення зморшок [47].

Сільське господарство: рамноліпіди використовуються для покращення якості ґрунту та його рекультивації. Також зараз проводяться дослідження рамноліпідів у якості біопестицидів та вивчають їх здатність до знищення патогенів рослин, що сприятиме засвоєнню добрив та поживних речовин через коріння рослин [48].

Біоремедіація та усунення розливів нафти: рамноліпіди, завдяки своїм хорошим емульгуючим властивостям, здатні ефективно видаляти розливи нафти із забрудненого ґрунту [37].

Проте, не зважаючи на всі переваги, рамноліпіди все ще не здатні повністю витіснити з ринку ПАР хімічного походження. Це пов'язано із особливостями процесу синтезу рамноліпідів у промислових масштабах та виробничими затратами. Відомо, що на процес культивування біоПАР припадає 70–80% від усіх виробничих витрат [39].

Трегалозоліпіди. Трегалозоліпіди мають високу емульгуючу здатність. Вони використовуються переважно для ліквідування розливів нафти. Трегалозоліпіди характеризуються високою біоактивністю, оскільки легко проникають через мембрани, демонструють гемолітичну активність, впливають на диференціацію клітин [49, 50, 51, 52, 53, 54]. Також вони володіють антимікробними властивостями і відіграють значну роль у лікуванні інфекційних захворювань [55]. Бактерії роду *Rhodococcus* можуть синтезувати як екзо-, так і ендогенні трегалозоліпіди.

Слід зазначити, що на сьогодні ще недостатньо фундаментальних досліджень метаболічних шляхів, залучених у синтез трегалозоліпідів. Схематично цей процес можна описати так: вуглеводний і жирнокислотний компоненти трегалозоліпідів синтезуються незалежно і згодом естерифікуються. Міколат утворюється в результаті конденсації типу Клайзена двох жирних кислот, тоді як синтез залишку вуглеводного компонента – трегалозо-6-фосфату, каталізується трегалозо-6-фосфатсинтетазою, яка зв'язує дві d-глюкопіранозні одиниці в положеннях C1 і C1'. Попередниками виступають UDP-глюкоза і глюкозо-6-фосфат [56]. Детальний

шлях біосинтезу всіх міколевих кислот у *M. tuberculosis* і трегалозодикориноміколатів був запропонований Такаґаґа та ін. [57].

Трегалозоліпіди, отримані за допомогою *Rhodococcus*, є структурно різноманітні: мономіколати, диміколати та триміколати трегалози; різні неіонні ацильовані похідні трегалози та аніонних тетраефірів трегалози та сукциноіл трегалозоліпідів. Враховуючи таку різноманітність трегалозоліпідів, відомих та вивчених на даний час, цілком імовірно, що нові штами *Rhodococcus*, отримані з інших середовищ, зможуть відкрити трегалозоліпіди з новими цікавими властивостями [58].

Трегалозоліпіди широко застосовують у багатьох сферах: біоремедіації ґрунтів, харчовій промисловості, сільському господарстві [55].

Полігідроксиалканоати. Полігідроксиалканоати (ПГА) є перспективними біопластиками завдяки своїм унікальним властивостям. Ці біополімери накопичуються в клітинах бактерій, особливо під час культивування в умовах незбалансованого середовища [59, 60]. ПГА складаються з ланцюгів, що містять від 100 до 30 000 мономерних одиниць 3-, 4- або 5-гідроксіалканових кислот (рис. 1.4) [61]. Кожна мономерна ланка містить бічний ланцюг (групу R), який зазвичай представлений насиченою алкільною групою [62].

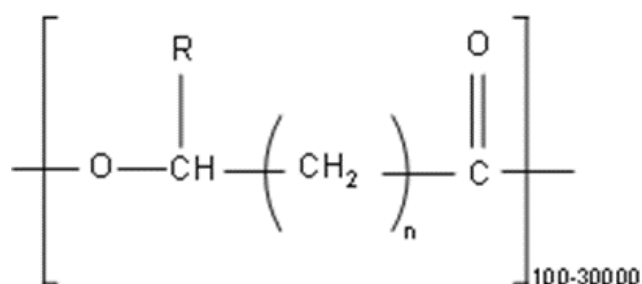


Рис. 1.4. Загальна формула мономерної ланки ПГА (n — кількість ланок у полімерному ланцюзі, R — бічна група)

$n = 1, 2, 3$; R — $\text{CH}_3, \text{C}_2\text{H}_5, \text{C}_3\text{H}_7, \text{C}_4\text{H}_9, \text{C}_5\text{H}_{11}, \text{C}_6\text{H}_{13}, \text{C}_7\text{H}_{15}, \text{C}_8\text{H}_{17}, \text{C}_9\text{H}_{19}, \text{C}_{10}\text{H}_{21}, \text{C}_{11}\text{H}_{23}, \text{C}_{12}\text{H}_{25}, \text{C}_{13}\text{H}_{27}$ [61].

Бактерії різних родів здатні до продукування ПГА різної будови. Зокрема, бактерії родів *Azotobacter* [63, 64], *Rhodococcus* [65], *Bacillus* [66] синтезують полігидроксибутират, а бактерії роду *Pseudomonas* здатні до синтезу суміші сополімерів 3-гідроксигексаноату, 3-гідроксіоктаонату, 3-гідроксидеканоату та 3-гідроксидодеканоату [67].

Залежно від хімічного складу ПГА демонструють різноманітні властивості. Усі ці біополімери є нерозчинними у воді, стійкими до гідролізу та ультрафіолетового випромінювання [68, 69], водночас вони характеризуються біорозкладністю та біосумісністю [70]. Поєднання фізичних, механічних і термодинамічних властивостей ПГА дозволяє розглядати їх як екологічно безпечну альтернативу традиційним пластмасам [63, 71].

Найбільш вивченим представником ПГА є полігидроксибутират (ПГБ). До його цінних характеристик належать високий ступінь кристалічності, п'єзоелектричність, оптична активність, біорозкладність і біосумісність [63, 72]. Водночас відносно низьке подовження при розриві обмежує можливості його широкого використання. ПГА з довшими бічними ланцюгами (зокрема, 3-гідроксигексаноат, 3-гідроксіоктаонат, 3-гідроксидеканоат) є більш гнучкими, характеризуються вищим подовженням при розриві порівняно з ПГБ і можуть використовуватися як його пластифікатори [63]. Покращення якості матеріалів на основі ПГБ може бути досягнуто шляхом створення композитів із різними сумісними матеріалами та іншими полімерами.

Унікальне поєднання властивостей ПГА відкриває широкі можливості для їх інноваційного застосування. Ці біополімери мають значний практичний потенціал у медицині, де їх використовують для виготовлення імплантатів, елементів сухожиль і хрящів, хірургічних швів для закриття ран, а також систем доставки лікарських засобів [73]. У сільському господарстві полігидроксибутирати застосовуються для інкапсуляції насіння й добрив, виготовлення плівок для захисту рослин у теплицях [74], а також як біорозкладні пакувальні матеріали [75, 76].

Головним недоліком ПГА залишається висока собівартість їх виробництва. Одним із можливих шляхів здешевлення є оптимізація складу поживного

середовища для культивування бактерій, використання промислових відходів і дешевих субстратів, а також отримання ПГА як супутнього продукту інших біотехнологічних процесів, де бактеріальні клітини розглядаються як відходи [63].

Таким чином, ПГА є перспективною групою біополімерів завдяки своїм унікальним властивостям, біорозкладності та широкому спектру застосувань у різних галузях. Подальше зниження вартості їх виробництва можливе за рахунок біоінженерної оптимізації умов культивування та використання доступної сировини, що сприятиме більш активному впровадженню ПГА у промисловість.

Сурфактин. Сурфактин є природним ліпопептидним біосурфактантом, що синтезується бактеріями роду *Bacillus*, а саме *B. subtilis*. Він складається з циклічного гептапептиду, до якого приєднаний ланцюг β -гідроксильованої жирної кислоти (C13–C15) [85]. Його амфіфільна природа обумовлює здатність знижувати поверхневий натяг води до рівня 27–28 мН/м, що робить його одним із найпотужніших відомих біосурфактантів [86].

Емульгуюча здатність сурфактину є однією з його ключових властивостей, яка обумовлена амфіфільною структурою молекули. Завдяки поєднанню ліпофільного вуглеводневого ланцюга і гідрофільної циклічної пептидної частини, сурфактин здатний ефективно стабілізувати двофазні системи. Це досягається шляхом зниження міжфазного натягу та утворення стійких міжфазних плівок [87].

Емульгуюча здатність сурфактину зберігається навіть за екстремальних умов, таких як високі температури, широкий діапазон рН та наявність солей. Ця стабільність пояснюється фізико-хімічними особливостями молекули, які дозволяють їй залишатися активною у різних середовищах. Довжина вуглеводневого ланцюга жирної кислоти також впливає на ефективність емульгуючої дії, оскільки більші ланцюги забезпечують посилену взаємодію з гідрофобними фазами, збільшуючи стійкість емульсії [88].

Сурфактин демонструє стабільність поверхнево-активних властивостей за умов різних рН, температур і концентрацій солей, а також характеризується високим емульгувальним потенціалом щодо гідрофобних сполук [89].

Ферментація *B. subtilis* DSM10 без контролю рН при 37 °С дозволяє досягти високого виходу сурфактину (до 5 г/л) та показали економічну доцільність такого підходу [90].

Манозилеритритолліпіди. Манозилеритритолліпіди (MEL), клас гліколіпідних біосурфактантів, привертають значну увагу завдяки своїй поверхнево-активній та біологічній активності. Вони синтезуються дріжджами, зокрема представниками роду *Ustilago* та *Pseudozyma*, і складаються з манозилеритритолової голівки, з'єднаної з однією або кількома жирними кислотами. MEL поділяються на три основні типи — MEL-A, MEL-B, MEL-C, залежно від ступеня ацилювання та структури гідрофобної частини [91].

Основними властивостями MEL є їх здатність значно знижувати поверхневий та міжфазний натяг, що робить їх ефективними емульгаторами. MEL демонструють високу термостабільність і зберігають активність у широкому діапазоні рН, що розширює їхнє застосування у промисловості. Вони біосумісні, що робить їх привабливими для медичних і косметичних продуктів. Крім того, MEL проявляють антимікробну активність і здатність впливати на формування біоплівки, що робить їх перспективними компонентами для створення антисептичних засобів і антимікробних покриттів [92, 93].

У промисловому застосуванні MEL використовуються як стабілізатори емульсій, зокрема у косметиці для створення кремів, шампунів та лосьйонів [94]. Вони також застосовуються в агрохімії як біопестициди та стимулятори росту рослин [95]. У біомедицині MEL вивчаються як носії для доставки лікарських засобів, оскільки вони можуть формувати стабільні наноструктури [96]. В іншому дослідженні, Вакур та ін. продемонстрували протидіабетичну, антибактеріальну та протипухлинну активність [97].

Важливим аспектом є біотехнологічне виробництво MEL. Їх отримують у ферментаційних процесах із використанням відновлюваних ресурсів, таких як рослинні олії або відходи олієпереробної промисловості. Оптимізація шляхів біосинтезу та використання генної інженерії дозволяють підвищувати продуктивність і знижувати вартість їх виробництва.

1.4. Особливості біотехнологічного процесу одержання мікробних полімерів та сурфактантів

Біотехнологічний процес одержання біосурфактантів мікробного походження базується на ферментації, де мікроорганізми, такі як бактерії (*Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Bacillus*), дріжджі (*Candida*), або гриби (*Aspergillus*), синтезують поверхнево-активні речовини як метаболіти. Ці процеси часто здійснюються на дешевих субстратах, таких як сироватка, рослинні олії або промислові відходи, що знижує виробничі витрати [98].

Ферментаційні умови ретельно регулюються для оптимізації продуктивності виходу біосурфактанту. Ключовими параметрами є температура, рН, швидкість перемішування, а також вибір середовища культивування, багатого на вуглець і азот [99]. Тип субстрату може впливати на якість і кількість кінцевого продукту, зокрема на тип синтезованого біосурфактанту, наприклад, гліколіпіди, ліпопептиди або фосфоліпіди.

В умовах складності біотехнологічних систем, на які впливає велика кількість якісних і кількісних чинників, оптимізація процесів набуває особливого значення. Для визначення значущих факторів ефективно застосовуються методи дисперсійного та регресійного аналізу. Математичне моделювання, у свою чергу, є ключовим інструментом для оптимізації процесів біосинтезу, оскільки дозволяє прогнозувати поведінку системи за різних умов, виявляти критичні параметри та визначати оптимальні фактори. Такий підхід не лише скорочує потребу в трудомістких експериментах, але й сприяє підвищенню продуктивності та зменшенню економічних витрат.

Після ферментації важливим є очищення та концентрування біосурфактанту, що включає багатоступеневі процеси, такі як фільтрація, осадження або екстракція розчинниками. Цей етап є однією з основних проблем через значні витрати та складність отримання чистого продукту [100].

1.5. Фактори, що впливають на процес культивування мікробних полімерів та сурфактантів

На процес культивування мікроорганізмів-продуцентів біосурфактантів впливає багато факторів. Серед них ключовими є такі: джерело вуглецю, джерело азоту, температура, рН, швидкість перемішування та тривалість ферментації. Також на процес культивування біоПАР впливає тип біореактора.

Як джерело вуглецю у живильному середовищі використовують вуглеводи, олії та жири [101]. Вони можуть бути як розчинними у воді (гліцерол, глюкоза, сахароза), так і нерозчинними (рослинні олії). Найпоширенішим джерелом вуглецю є глюкоза. Дослідники Tomar та ін. проводили синтез біосурфактанту при культивуванні *Pseudomonas aeruginosa* MTCC 7815 в середовищі, що містить глюкозу, гліцерол, фруктозу та крохмаль. Максимальний індекс емульгування $E_{24} = 76,77\%$ та мінімальний поверхневий натяг (34,53 мН/м) був характерний для біоПАР, що вирощували у середовищі, у якому глюкоза виступала основним джерелом вуглецю [102].

Дослідники Santa Anna та ін. для видів *Bacillus* sp. і *Pseudomonas* sp. показали, що джерелом азоту може бути екстракт дріжджів, екстракт м'яса, NH_4NO_3 , NaNO_3 та сечовина. Досліджено, що при культивуванні *Pseudomonas aeruginosa*, у мінеральному соляному середовищі, з використанням нітрату натрію, замість інших джерел азоту, вихід рамноліпиду становив 3,16 г/л [103].

В дослідженні Hippolyte та ін. виявлено, що підвищення температури стимулює вироблення біосурфактанта із *Lactobacillus paracasei* N2 і при поверхневий натяг не змінюється. Максимальний вихід і активність біоПАР спостерігали у діапазоні температур 33–34 °C та концентрації патоки 5,49–6,35% (мас/об). При такому діапазоні температур відбувається ефективно використання пептону та патоки штамом *Lactobacillus paracasei* N2 з максимальним виходом біосурфактанта, для якого характерна висока антимікробна та поверхнева активність. За межами цього діапазону температур автори спостерігали зниження виходу та послаблення активності біосурфактанта, що продукується *Lactobacillus paracasei* N2. Підвищення температури могло призвести до пригнічення росту

клітин та послабленого синтезу біосурфактанта [104]. У дослідженні Agarry та ін. виявлено, що сурфактанти, вирощені з використанням бактерій родів *Bacillus* та *Pseudomonas*, мають найвищу активність при температурі 30 °C [105].

Робочі діапазони температури та рН повинні підбиратись дуже ретельно, оскільки зміна температури не повинна викликати зміни у складі біоПАР. Оптимальна температура культурального середовища для максимального виходу біосурфактанту залежить від фізіології організму-продуцента. Guerra-Santos та ін. дослідили, що для синтезу рамноліпідів *Pseudomonas sp.* найоптимальніший діапазон рН знаходиться у межах 6,0–6,5, а при збільшенні рН до 7,0 відбувається різке зниження [106].

У дослідженні Akbari та ін. визначали оптимальну швидкість перемішування при культивуванні *Kocuria rosea* ABR6. Експерименти проводили зі швидкостями 80 об/хв, 100 об/хв, 120 об/хв та 140 об/хв, при цьому решта параметрів залишились незмінними. З'ясувалося, що оптимальна швидкість перемішування при синтезі біосурфактанту за допомогою *Kocuria rosea* ABR6 дорівнює 120 об/хв [107].

Тривалість ферментації повинна визначатися з врахуванням можливого утворення вторинних метаболітів, які можуть перешкоджати утворенню емульсії та адсорбції молекул біоПАР. Інкубаційний період відіграє дуже важливу роль у синтезі біосурфактантів, оскільки біомолекули синтезуються через різні проміжки часу. Наприклад, максимальний вихід біосурфактанту при ферментації *Acinetobacter sp.* був досягнутий через 168 год в середовищі з додаванням оливкової олії, тоді як для *Aeribacillus pallidus* YM-1 оптимальний вихід біосурфактанту був зафіксований всього через 10 годин при вирощуванні в середовищі, що містить глюкозу [108, 109].

Усі параметри культивування, які суттєво впливають на вихід біоПАР, потрібно підбирати для кожного продуцента експериментально або шляхом моделювання процесу. Правильний підбір параметрів дасть змогу суттєво оптимізувати процес синтезу біосурфактантів та знизити вартість виробництва.

1.6. Шляхи застосування мікробних полімерів та сурфактантів

Мікробні полімери та біосурфактанти є біологічно активними речовинами, які знаходять численні шляхи застосування у промисловості, медицині, сільському господарстві та екології. Їх особливості, зокрема низька токсичність, біорозкладність, ефективність за екстремальних умов, а також здатність до взаємодії з іншими молекулами, роблять їх перспективними для багатьох галузей.

У медицині біосурфактанти використовуються для створення лікарських форм, зокрема систем доставки ліків. Завдяки здатності формувати міцели та емульгувати активні молекули, вони підвищують розчинність і біодоступність ліків. Наприклад, рамноліпіди та сурфактини демонструють антибактеріальні, протівірусні та протигрибкові властивості, що дозволяє застосовувати їх як антибактеріальні агенти або у виробництві гідрогелів для доставки лікарських засобів [110, 111, 112, 113].

В екології біосурфактанти використовуються для біоремедіації, зокрема очищення ґрунтів та води від нафтопродуктів і токсичних речовин. Їх здатність знижувати поверхневий натяг і емульгувати гідрофобні молекули дозволяє ефективно видаляти нафту з екосистем [114, 115, 116].

У харчовій промисловості біополімери, такі як екзополісахариди, використовуються для створення стабілізаторів і загущувачів, що покращують текстуру продуктів. Біосурфактанти використовують для виробництва харчових емульсій, що дозволяє створювати екологічно безпечні продукти [117, 118].

У сільському господарстві біоПАР застосовуються як біопестициди та стимулятори росту рослин. Наприклад, біосурфактанти можуть покращувати проникнення поживних речовин у кореневу систему, підвищуючи врожайність культур [117, 119, 120, 121, 122].

Наразі спектр застосування біосурфактантів на основі гліколіпідів, зокрема, рамноліпідів величезний. Їхня здатність зменшувати міжфазний натяг відіграє дуже важливу роль у косметичі, миючих засобах та інших галузях промисловості, що виробляють мийні засоби.

Отже, завдяки своїм властивостям гліколіпіди мають широкий потенціал до застосування, проте є і певні обмеження в їх використанні. По-перше, з економічної точки зору процес отримання біосурфактантів мікробного походження є достатньо вартісним. По-друге, вихід гліколіпідів мікробного походження є достатньо низьким, що істотно впливає на собівартість виробництва. Тому одним із шляхів збільшення виходу біомаси мікробних клітин та цільових продуктів є оптимізація умов культивування мікроорганізмів, насамперед підбір компонентів середовища.

1.7. Моделювання й оптимізація процесів одержання мікробних полімерів та сурфактантів

Оптимальний склад поживного середовища може визначатися як експериментально, так і за допомогою математичних моделей. Застосування кінетичного моделювання в біотехнології є особливо важливим, оскільки дозволяє враховувати динамічний характер біологічних систем та їхню складну структурну організацію. Такий підхід забезпечує цілісне уявлення про поведінку системи в часі, дозволяє аналізувати взаємодії між мікроорганізмом, середовищем та кінцевим продуктом, а також передбачати її реакцію на зміни умов середовища.

Моделювання процесів синтезу біосурфактантів відіграє ключову роль у підвищенні ефективності їх виробництва. Воно дозволяє оптимізувати критичні параметри, зокрема ріст біомаси, споживання субстрату та накопичення цільового продукту, що значно знижує витрати, пов'язані з масштабуванням виробництва.

Кінетичні моделі є одним із найпоширеніших інструментів для кількісного опису процесів біосинтезу мікробних полімерів та біосурфактантів. Їх основною перевагою є здатність описувати динаміку змін концентрацій біомаси, субстратів і цільових метаболітів у часі. Такі моделі базуються на системах диференційних рівнянь, які враховують взаємозв'язки між швидкостями росту клітин, споживанням поживних речовин та накопиченням продукту.

Кінетичні моделі також дають змогу описувати фізіологічні процеси всередині біореактора, що відкриває можливості для впровадження альтернативних, економічно вигідніших джерел вуглецю та азоту. Крім того, вони

сприяють ефективному моніторингу та автоматизованому регулюванню параметрів процесу у промислових умовах, зменшуючи вплив дестабілізуючих факторів і підвищуючи стабільність виходу.

Найпростішим прикладом є модель Моно, яка описує залежність швидкості росту мікроорганізмів від концентрації лімітуючого субстрату [123]. Ця модель є аналогом рівняння Міхаеліса–Ментен і часто використовується як базова для моделювання ферментаційних процесів, оскільки добре працює за умов, коли ріст лімітується одним субстратом і не враховує інгібування продуктами або токсичними речовинами.

На сьогодні у літературі є достатньо даних про використання моделі Моно для визначення кінетичних параметрів, зокрема, швидкості росту біомаси та швидкості використання субстрату. Наприклад, Som та ін. за допомогою моделі Моно описали процеси мікробного очищення стічних вод [124].

Dawі та ін. використали рівняння Моно для моделювання швидкості росту біомаси мікроорганізмів при обмеженому запасі поживних речовин в середовищі. Вони успішно використали цю методологію для реконструкції двох досліджень мікробно-індукованої деградації органічних сполук у пористих середовищах: спостережень кінетики *Pseudomonas putida* F1 під час вирощування на бензолі, толуолі та фенолі в реакторах періодичної дії та досліджень біодеградації чотирьохлористого вуглецю денітрифікуючою бактерією *Pseudomonas stutzeri* KC [125].

У випадках, коли високі концентрації субстрату інгібують ріст, застосовуються моделі Халдейна, які враховують негативний ефект надлишку субстрату [126].

Для опису синтезу вторинних метаболітів, зокрема біосурфактантів, важливими є моделі, які враховують розмежування фаз росту і продукції. Однією з таких є модель Людекінга–Пірета, яка розділяє швидкість синтезу продукту на асоційовану з ростом (залежну від швидкості накопичення біомаси) і неасоційовану (незалежну від росту) [127]. Цей підхід дозволяє моделювати продукцію речовин,

які накопичуються переважно у стаціонарній фазі або в стресових умовах, що є характерним для багатьох біосурфактантів.

Більш складні кінетичні моделі можуть включати множинні субстрати, інгібітори, коферменти та інші чинники, які впливають на ріст і синтез. Для цього будуються розширені системи рівнянь, які описують не лише основні метаболічні потоки, але й побічні реакції або регуляторні зв'язки. Наприклад, у випадку ПГА, важливо враховувати співвідношення між вуглецевими та азотними джерелами, оскільки надлишок вуглецю при дефіциті азоту стимулює продукцію полімеру [128].

Для параметризації кінетичних моделей використовуються експериментальні дані про концентрації компонентів на різних часових точках. Отримані рівняння можуть бути розв'язані аналітично або чисельно, що дозволяє прогнозувати поведінку системи в нових умовах або оптимізувати стратегії живлення у ферментаційному процесі. Багато досліджень також використовують ці моделі як основу для розробки алгоритмів керування в біореакторах, де необхідно підтримувати параметри на оптимальному рівні для забезпечення стабільної продуктивності [129].

Зокрема, моделі Моно та Людекінга–Пірета широко використовувались для моделювання накопичення ПГА у таких мікроорганізмів, як *Cupriavidus necator* та *Pseudomonas putida*. Завдяки кінетичному моделюванню вдалося встановити, що максимальна продукція ПГА досягається при обмеженні джерела азоту та надлишку вуглецю, що дозволило оптимізувати подачу субстрату під час ферментації [130, 131].

Іншим прикладом є використання моделі Халдейна для опису росту *Bacillus subtilis* при синтезі сурфактину. Модель дозволила виявити концентраційний діапазон глюкози, при якому спостерігається субстратне інгібування, що дало змогу адаптувати стратегію живлення у біореакторі [14]. У деяких дослідженнях також використовували комбіновані підходи — поєднання кінетичних моделей з експериментальним дизайном — для одночасної оптимізації декількох параметрів середовища [132].

Моделювання успішно застосовується в різних сферах мікробного синтезу, включаючи виробництво полімерів, біосурфактантів, органічних кислот, ферментів та інших метаболітів. Такі дослідження демонструють практичну цінність моделей у зменшенні кількості експериментів, покращенні розуміння біопроцесів і розробці ефективних стратегій культивування.

У виробництві рамноліпідів із *Pseudomonas aeruginosa* також застосовувалися математичні моделі для моделювання залежностей між джерелом карбону (наприклад, гліцеролом або пальмовою олією), рН, температурою та концентрацією продукту. Результати таких моделей дали змогу прогнозувати вихід рамноліпідів без повного проведення ферментації, що значно знизило експериментальні витрати [133].

Окремо варто відзначити використання моделей для масштабування процесів. Наприклад, у перехідних процесах з лабораторного масштабу до пілотного обсягу (10–100 літрів) моделювання дозволяє оцінити вплив гідродинаміки, рівня розчиненого кисню, часу змішування та інших інженерних параметрів на продуктивність [134]. Такий підхід дозволяє адаптувати параметри біореактора без втрати ефективності, що є критичним етапом перед впровадженням у виробництво.

Таким чином, успішні приклади застосування моделей у біотехнології підтверджують їхню здатність покращувати розуміння процесів, оптимізувати умови культивування і скорочувати час розробки біопроцесів. Це дозволяє не лише пришвидшити наукові дослідження, а й забезпечити стабільну і передбачувану ефективність на промисловому рівні.

Дизайн експерименту. Ефективне управління біотехнологічними процесами часто вимагає системного підходу до дослідження впливу численних факторів на цільові показники. Методи планування експерименту — зокрема повний факторний дизайн (Full Factorial Design, FFD), центральний композитний дизайн (Central Composite Design, CCD) і дизайн Бокса-Бенкена (Box-Behnken Design, BBD) — є ключовими інструментами, що дозволяють системно вивчати вплив декількох факторів та їх взаємодій на вихід біопродуктів.

Повний факторний дизайн охоплює всі можливі комбінації рівнів факторів і дозволяє не лише виявити лінійні ефекти, а й дослідити взаємодії між змінними. Наприклад, у виробництві біосурфактантів цей підхід використовують для визначення комбінацій рН, температури, концентрацій джерел вуглецю та азоту, що забезпечують максимальний синтез цільових метаболітів. Його головною перевагою є повнота охоплення простору експерименту, однак зростання кількості комбінацій при збільшенні кількості факторів робить FFD дуже ресурсомістким.

Саме тому для більш ефективної роботи зі складними багатофакторними системами частіше використовуються CCD та BBD. У виробництві полігидроксибутирату (ПГБ) штамом *Bacillus cereus*, застосування CCD дало змогу оптимізувати концентрації глюкози, пептону та рН, що призвело до зростання вмісту полімеру до 3100 мг/л [135].

Дизайн Бокса-Бенкена, на відміну від FFD, не включає комбінації з одночасно екстремальними значеннями всіх факторів, що знижує ризик втрати культури через токсичні або стресові умови. Його ефективно використовували у дослідженнях із штамом *Brevibacillus borstelensis* для оптимізації концентрацій кукурудзяного екстракту, $MgSO_4$ та пептону. Результатом стала оптимізація виробництва біосурфактантів з підвищенням виходу до 4,06 г/л [136].

Виробництво рамноліпідів за участі *Pseudomonas aeruginosa* MA01 також активно моделювалося з використанням CCD. Оптимізація параметрів дозволила підвищити вихід рамноліпідів до 15,68 г/л. Такі результати підтверджують важливість підбору умов не лише емпірично, а й із використанням математичного апарату [137].

Методи оптимізації часто поєднуються з моделями відгуку (Response Surface Methodology, RSM), що дозволяє візуалізувати результати у вигляді тривимірних поверхонь. Це значно спрощує аналіз впливу окремих змінних та їхніх комбінацій, сприяючи виявленню точок оптимуму. Наприклад, у дослідженні оптимізації виробництва біоетанолу з м'яси за допомогою RSM враховувалися такі змінні, як концентрація субстрату, рН, температура та час ферментації. Результатом стало підвищення виходу біоетанолу до 84% під оптимальними умовами: концентрація

субстрату 200 г/л, рН 5,0, температура 30 °С та час ферментації 72 години. Це дослідження демонструє ефективність RSM у моделюванні як лінійних, так і квадратичних ефектів, що дозволяє точно прогнозувати результати та оптимізувати процеси ферментації [138].

Загалом, впровадження методів планування експерименту дає змогу істотно зменшити кількість необхідних досліджень без втрати якості, забезпечити кращу відтворюваність, і найголовніше — підвищити продуктивність та економічну ефективність біотехнологічних процесів. У сфері мікробного синтезу полімерів та біосурфактантів це відкриває шлях до раціонального проектування середовищ, вибору умов культивування та масштабування виробництва.

Статистична оцінка моделей. У біотехнологічних дослідженнях математичне моделювання є не лише інструментом опису процесів, але й важливою складовою оптимізації умов культивування та підвищення ефективності виробництва. Надійність будь-якої моделі значною мірою визначається якістю її статистичної оцінки. Серед базових підходів для такої оцінки найбільш поширеними є дисперсійний аналіз (ANOVA) та регресійний аналіз.

ANOVA використовується для виявлення статистично значущих ефектів факторів, які впливають на відгук біотехнологічної системи, а також для перевірки адекватності побудованої моделі. Наприклад, у дослідженні з оптимізації продукції рибофлавіну штамом *Lactobacillus plantarum* HDS27 було показано, що температура, рН та концентрація глюкози мають високий ступінь впливу на біосинтез вітаміну B₂ [139]. ANOVA дозволила дослідникам обґрунтувати вибір ключових параметрів для подальшої оптимізації.

Регресійний аналіз, у свою чергу, є методом кількісного опису взаємозв'язку між змінними та відгуком системи. У вищезгаданій роботі було побудовано поліноміальне рівняння другого порядку, яке враховувало як лінійні, так і квадратичні та інтерактивні ефекти. Модель успішно передбачала поведінку системи за змін умов культивування, що було підтверджено експериментально.

Поєднання ANOVA, регресійного аналізу та методології поверхні відгуку дозволяє не лише виявити значущі фактори, але й побудувати тривимірні поверхні

оптимізації. Такий підхід є особливо ефективним при роботі з багатofакторними системами.

Наприклад, при дослідженні ферментаційного процесу з використанням штаму *Torulopsis glabrata* TP19 для продукування піровиноградної кислоти, було використано RSM для оптимізації концентрацій глюкози, амонію сульфату та нікотинової кислоти. Застосована модель забезпечила підвищення продуктивності до 42,4 г/л [140].

У сучасній практиці ці методи дедалі частіше поєднуються з алгоритмами машинного навчання, що дозволяє аналізувати великі масиви біотехнологічних даних з високим ступенем складності. Зокрема, при роботі з незбалансованими генетичними даними застосування регресійних моделей у комбінації зі статистичним відбором ознак дало змогу значно покращити точність прогнозування [141].

Таким чином, статистична оцінка моделей не лише забезпечує верифікацію математичних описів процесів, але й є засобом інформованого керування експериментальним дизайном. Це дозволяє мінімізувати кількість необхідних експериментів і забезпечити високу достовірність результатів на кожному етапі розробки біотехнологічного процесу.

Висновки до розділу 1

У результаті проведеного літературного аналізу встановлено, що мікробні полімери та сурфактанти є одними з найбільш перспективних продуктів сучасної біотехнології завдяки своїм фізико-хімічним властивостям, біорозкладності та широкому спектру застосування. Незважаючи на активний розвиток експериментальних підходів до їхнього отримання, залишається актуальною проблема оптимізації процесів біосинтезу.

Огляд показав, що моделювання відіграє ключову роль у дослідженні та оптимізації біотехнологічних процесів. Емпіричні та статистичні моделі, побудовані на основі методології поверхні відгуку (RSM) дають змогу дослідити та оптимізувати умови з мінімальними експериментальними витратами.

Значна увага в сучасних дослідженнях приділяється застосуванню ANOVA та регресійного аналізу для статистичної оцінки значущості факторів і оцінки точності моделей. Ці підходи показали високу ефективність у моделюванні багатфакторних систем з метою підвищення виходу продукту, поліпшення економічних характеристик процесу та зменшення кількості експериментів.

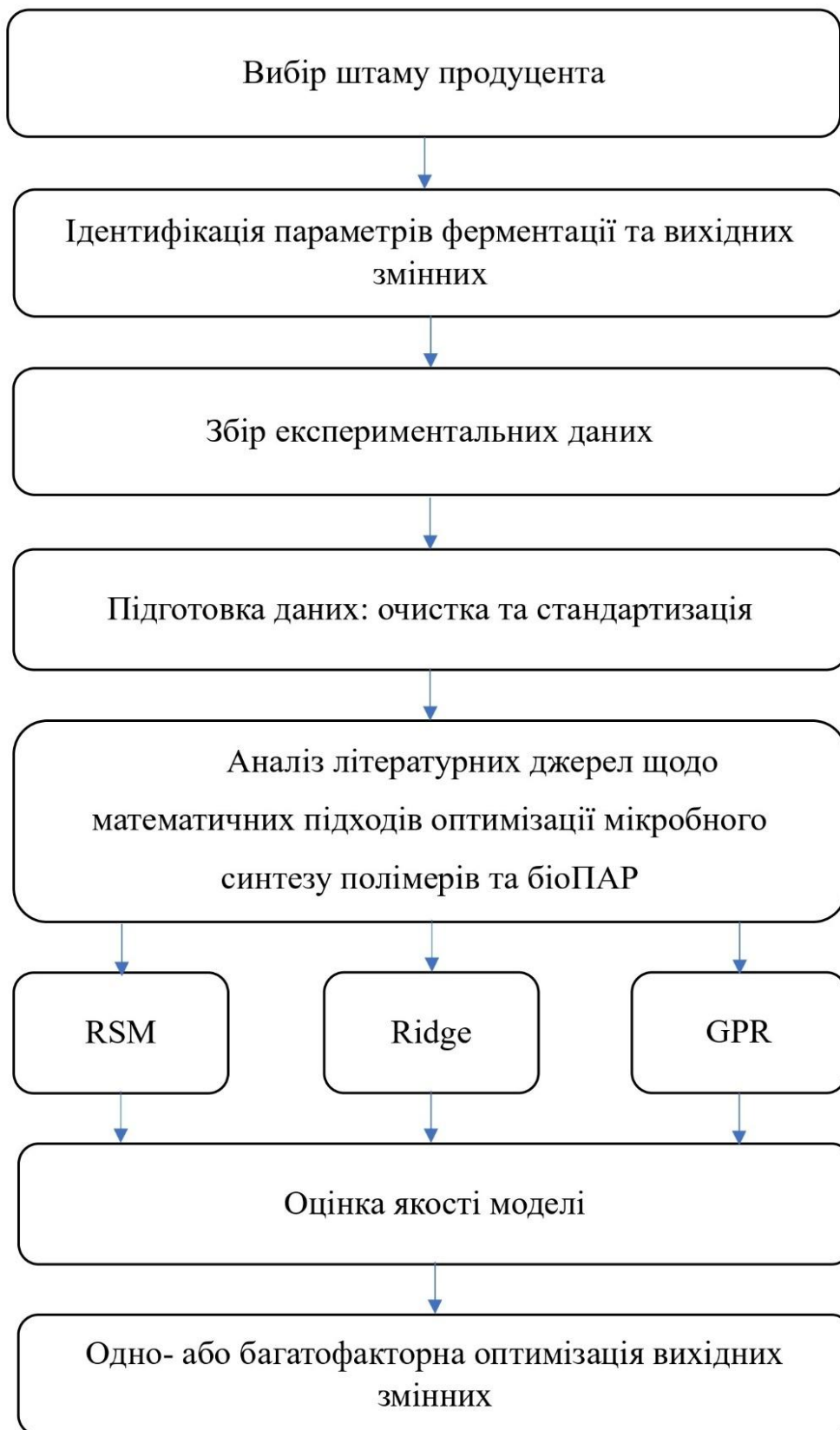
Кінетичні моделі Моно, Халдейна, Людекінга–Пірета дозволяють кількісно описати динаміку росту мікроорганізмів і накопичення цільових метаболітів, однак застосування таких моделей є обмеженим для складних процесів біосинтезу.

Також спостерігається зростаюча тенденція до інтеграції інструментів машинного навчання у моделювання синтезу полімерів і біосурфактантів. Такі моделі демонструють здатність враховувати складні нелінійні залежності, особливо в умовах обмежених або нерівномірних експериментальних вибірок.

Таким чином, аналіз літератури підтверджує необхідність застосування біоінженерних підходів до оптимізації процесів біосинтезу, що включає поєднання математичного моделювання, статистичних методів та машинного навчання.

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Схема досліджень



2.2. Об'єкти досліджень – продуценти та умови їх культивування

Продуцент *Bacillus subtilis* GSP16. Частина досліджень проведена на базі лабораторії ТзОВ «КАРПАТОЛ» (м. Львів). У дослідженні, як основний продуцент біогенних поверхнево активних речовин, використовувався штам *B. subtilis* GSP16, депонований в Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології НАН України (*Bacillus subtilis* IMB B-8046). Це грампозитивні спороутворювальні прямі палички зі слабо заокругленими кінцями. Аероби, можуть рости на агаризованих середовищах МПА, картопляному агарі. На агаризованому середовищі МПА мікроорганізми утворюють колонії діаметром 3-5 мм з нерівними краями бежевого кольору. Характеризуються вираженою антагоністичною дією до фітопатогенних мікроорганізмів – збудників хвороб рослин. Штам *B. subtilis* GSP16 відзначається підвищеною піноутворювальною здатністю, а також стійкістю до зростання у висококонцентрованих середовищах на основі гліцерину.

Культивування штаму *B. subtilis* GSP16 здійснювалось у лабораторних умовах у 3-літрових колбах, заповнених по 1,5 л рідкого живильного середовища.

Поживного середовища складалося, дм³: NaNO₃ -4; KH₂PO₄- 1,2; K₂HPO₄ ·3H₂O -2,0; MgSO₄ ·7H₂O-0,5; гліцерол - 40; цитрат натрію – 5,0; дистильована вода – до 1 дм³.

Для забезпечення належної аерації колби встановлювали на горизонтальний струшувач із швидкістю обертання 200 об/хв. Температурний режим підтримувався в межах 30 °С, що дозволяло створити оптимальні умови для росту мезофільних мікроорганізмів. Тривалість культивування становила 10 діб, при цьому забір проб здійснювався у вибрані інтервали часу з урахуванням стадій росту мікробної біомаси.

Інокуляцію проводили безпосередньо зі скосів агарового середовища, використовуючи 1 косяк на кожному банку. Перед початком культивування живильні середовища стерилізували в автоклаві за температури 121 °С (1,3 атм) протягом 25 хвилин.

Для подальшого аналізу проби піддавались центрифугуванню при 3000 об/хв протягом 15 хвилин. Надосадову рідину (супернатант) зливали та з неї осаджували

біосурфактант, а отриманий осад (біомаса) висушували. У випадках, коли необхідно було осадити біосурфактанти з розчину, проводили підкислення супернатанту 10% розчином хлороводневої кислоти (HCl) до досягнення рН 3,0. Зразки зберігали при кімнатній температурі в кислому середовищі до моменту проведення кількісного та якісного аналізу.

Дані, отримані у промислових умовах, були використані для математичного моделювання та подальшої оптимізації на основі методології поверхні відгуку. Особлива увага приділялась багатокритеріальній оптимізації з урахуванням економічного чинника, для чого було побудовано модель вартості компонентів середовища та функцію бажаності, що одночасно оптимізує продуктивність і вартісні показники.

Продуцент *Pseudomonas* sp. PS-17. Для біосинтезу рамноліпідів у лабораторних умовах був використаний штам *Pseudomonas* sp. PS-17. Синтез біосурфактанту в цьому випадку відбувався за класичною схемою з використанням джерела вуглецю (гліцеролу) та джерел азоту, включно з натрій нітратом і натрій цитратом. Метою дослідження було встановлення залежності вихідних показників (АСБ, РЛ, ЕПС) від варіювання концентрацій трьох ключових компонентів живильного середовища.

Оскільки дизайн експерименту не відповідав класичним схемам планування, було прийнято рішення про застосування Ridge-регресії як моделі, стійкої до мультиколінеарності. Додатково проведено оцінку факторної чутливості, побудовано поверхні відгуку та виконано окрему і багатокритеріальну оптимізацію кожного з трьох вихідних показників.

Продуцент *Rhodococcus ruber* UCM Ac-288. Для біосинтезу ПГА був використаний штам *R. ruber* UCM Ac-288. Дослід базувався на даних з 18 експериментів, у яких варіювались концентрації фруктози (30–50 г/л) та натрій нітрату (0,1–0,5 г/л), а як вихідні параметри визначались біомаса та вміст ПГА.

З огляду на невпорядкованість дизайну експерименту та обмежену кількість спостережень, для моделювання було обрано підхід GPR, який дозволяє не лише виконувати точне прогнозування, але й оцінювати невизначеність моделі. Це

забезпечило можливість побудови карт очікуваного покращення, а також — реалізації багатокритеріальної оптимізації з високим рівнем інтерпретованості результатів.

2.3. Методи визначення цільових метаболітів

Аналітичні методи, що використовувались у дослідженні, були спрямовані на кількісне визначення основних метаболітів, зокрема абсолютно сухої біомаси (АСБ), рамноліпідів (РЛ), екзополісахаридів (ЕПС) та полігідроксиалканоатів (ПГА). Оцінювання концентрацій цих речовин дозволяло дослідити ефективність синтезу біопродуктів залежно від факторів живильного середовища та умов культивування.

Визначення абсолютно сухої біомаси (АСБ). Для оцінювання біомасоутворення використовували гравіметричний метод. Проби культуральної рідини (50–100 мл) центрифугували за 3000 об/хв упродовж 15 хвилин. Отриманий осад промивали дистильованою водою, знову центрифугували та висушували до постійної маси при температурі 105 °С. Результати виражали у грамах сухої речовини на літр культуральної рідини (г/л).

Визначення рамноліпідів (РЛ). Визначення РЛ проводили після підкислення надосадової рідини до рН 3,0. Поверхнево-активні речовини екстрагували органічним розчинником (наприклад, хлороформом-етанолом у співвідношенні 2:1), після чого розчинник випарювали, а залишок зважували. Вміст РЛ виражали у г/л.

Визначення екзополісахаридів (ЕПС). Виділення ЕПС здійснювали осадженням їх етанолом із супернатанту у співвідношенні 1:2 або 1:3. Осад відокремлювали центрифугуванням, висушували при 60–70 °С та зважували. ЕПС виражали у г/л культуральної рідини.

Визначення полігідроксиалканоатів (ПГА). Кількісне визначення ПГА проводилось за допомогою гравіметричного методу після попереднього виділення полімеру з клітинної біомаси. Для цього біомасу піддавали дезінтеграції

ізопропанолом та екстракції хлороформом, з подальшим переосадженням у метанолі. Отриманий осад висушували та зважували.

2.4. Підготовка та обробка даних

Усі експериментальні дані, які використовувалися в подальшому для математичного моделювання, були попередньо оброблені відповідно до сучасних вимог аналітичної статистики. Підготовка включала кілька послідовних етапів, кожен із яких був реалізований за допомогою Python та відповідних бібліотек (pandas, numpy, matplotlib, seaborn, scikit-learn).

Імпорт та уніфікація даних. Експериментальні дані було імпортовано з електронних таблиць Excel (формат .xlsx) з подальшим очищенням назв колонок та нормалізацією форматування. Для цього використовувалася бібліотека pandas, що дозволяло ефективно структурувати вхідну інформацію та здійснювати маніпуляції з ознаками та відгуками.

Стандартизація вхідних змінних. Оскільки використані моделі є чутливими до масштабів змінних, перед навчанням моделей усі фактори були стандартизовані використовуючи Z-перетворення за допомогою StandardScaler з пакету scikit-learn. Це передбачає перетворення кожної змінної до нульового середнього значення та одиничного стандартного відхилення.

Формування поліноміальними ознак. Для побудови поліноміальних регресій другого порядку було реалізовано розширення ознакового простору за допомогою PolynomialFeatures. Це дозволило врахувати не лише лінійні, а й квадратичні та взаємодіючі терміни, що суттєво підвищує гнучкість моделі.

Обробка аномальних значень та візуалізація даних. Для первинного виявлення викидів та перевірки узгодженості структури даних використовувались графічні методи, зокрема парні діаграми (seaborn.pairplot) та теплокарти кореляції (seaborn.heatmap). Це дозволило візуально перевірити взаємозв'язки між змінними та виявити потенційні мультиколінеарності або аномалії.

Нормалізація цільових змінних для багатокритеріальної оптимізації.

Для об'єднання кількох цільових функцій в єдину функцію бажаності, кожну вихідну змінну попередньо нормалізували до діапазону $[0; 1]$. Такий підхід дозволив об'єктивно агрегувати різнотипні показники в єдину мету оптимізації, забезпечуючи узгодженість масштабів значень.

Побудова сітки експериментальних точок (meshgrid). Для візуалізації поверхонь відгуку та прогнозів модельних функцій було реалізовано побудову рівномірної сітки значень факторів за допомогою `pumpy.meshgrid`. Це забезпечило змогу генерувати 3D-графіки та контурні плани з фіксованими значеннями одного з факторів.

2.5. Методи побудови математичних моделей

У рамках даного дослідження для опису, аналізу та прогнозування біотехнологічних процесів було застосовано три різні підходи до математичного моделювання, кожен з яких відповідав специфіці доступних експериментальних даних і дослідницьких завдань.

Поліноміальне моделювання з використанням методології поверхні відгуку (RSM). Побудова математичних моделей за методологією поверхні відгуку базувалась на використанні поліноміальної регресії другого порядку. Для реалізації моделей застосовувалися функції з бібліотек `scikit-learn` та `statsmodels`. Було реалізовано кодування факторів, створення моделей з квадратичними та інтерактивними членами, а також побудова поверхонь відгуку для ключових метаболітів. Розрахунок коефіцієнтів проводився методом найменших квадратів із подальшим статистичним аналізом (ANOVA) та побудовою графіків із ізолініями і 3D-візуалізацією. Даний підхід було застосовано для аналізу експериментальних даних, отриманих для *B. subtilis* GSP16.

Регуляризоване поліноміальне моделювання другого порядку (Ridge-регресія). Для обробки даних з дослідження продукції біосурфактантів *Pseudomonas* sp. PS-17 було використано Ridge-регресію як модифікацію поліноміального моделювання з регуляризацією коефіцієнтів. Це дозволило

знизити ризик перенавчання моделі та врахувати потенційну мультиколінеарність між факторами. Побудова моделі реалізовувалась через pipeline, який включав стандартизацію змінних (StandardScaler), розширення простору ознак (PolynomialFeatures) та застосування Ridge з параметром регуляризації $\alpha=1,0$. Розроблені моделі було використано як для прогнозування окремих вихідних змінних, так і для багатокритеріальної оптимізації на основі агрегованої функції бажаності.

Моделювання на основі гаусових процесів (GPR). Для обробки неупорядкованих даних без класичного плану експерименту, отриманих у дослідженні біосинтезу ПГА штамом *R. ruber* UCM Ac-288, застосовувались моделі GPR. Вибір цього підходу було зумовлено його здатністю створювати непараметричні моделі, що дозволяють одночасно прогнозувати очікуване значення та невизначеність результату. Кожна модель будувалась на основі ядра Matern у поєднанні з WhiteKernel і масштабувальним коефіцієнтом. Отримані моделі дозволили проводити інтерпретований аналіз варіацій, генерувати карти очікуваного покращення, будувати графіки залежності часткових ефектів, а також здійснювати багатокритеріальну оптимізацію на основі функції бажаності.

Інтеграція моделей у програмне середовище. Усі моделі було реалізовано у середовищі Python. Для моделювання використовувались модулі scikit-learn, statsmodels і scipy.optimize. Особлива увага приділялась структурованій реалізації моделей через pipeline-підходи, що забезпечувало відтворюваність, уніфікацію і легкість оцінки точності на етапах попередньої обробки, моделювання і оптимізації.

Кінетичне моделювання. Крім моделей, заснованих на факторному аналізі, було також реалізовано емпіричне кінетичне моделювання росту біомаси штаму *B. subtilis* GSP16. Для цього обчислювались питомі швидкості росту μ за логарифмічним приростом біомаси у часі, що дозволило побудувати залежність μ від концентрації гліцеролу. Було апробовано моделі Моно та Халдейна, параметри яких підбирались графічно.

2.6. Методи оцінки точності та діагностики моделей

Для забезпечення надійності побудованих математичних моделей та оцінки їхньої прогностичної спроможності в роботі були використані декілька підходів до оцінки точності та діагностики. Кожен із методів дозволяв з різних боків проаналізувати поведінку моделей, виявити потенційні слабкі місця та оцінити узгодженість між прогнозованими й фактичними значеннями.

Перехресна перевірка методом виключення одного спостереження (Leave-One-Out Cross-Validation, LOOCV). Для моделей GPR, побудованих на обмеженому обсязі експериментальних даних *R. ruber*, використовувалась перехресна перевірка з одним вилученням (LOOCV). Цей підхід дозволяє поетапно використовувати кожну спостережувану точку як тестову, навчаючи модель на всіх інших. Розрахунок метрик R^2 та RMSE у такому режимі забезпечив більш об'єктивну оцінку здатності моделі до узагальнення навіть при малій кількості експериментів.

Візуалізація залежностей між прогнозом і фактичними значеннями. Для моделі GPR, проводився порівняльний аналіз прогнозованих значень із фактичними. На діаграмах прогнозованих і фактичних значень оцінювалась щільність точок уздовж лінії ідеального передбачення, що дозволяло візуально визначити потенційні зони пере- або недопрогнозування.

Дисперсійний аналіз (ANOVA) та оцінка значущості (p-value). У разі використання моделей поверхні відгуку та поліноміальної регресії другого порядку для оцінки значущості факторів та адекватності моделі здійснювався дисперсійний аналіз (ANOVA). Оцінювались значення p-value для кожного з параметрів, включно з лінійними, квадратичними та інтерактивними членами. Це дозволяло ідентифікувати статистично незначущі змінні та виявити ключові фактори, що впливають на процес.

Аналіз залишків. Для виявлення потенційних систематичних похибок в моделюванні аналізувались залишки (residuals) між прогнозованими і фактичними значеннями. Особливу увагу приділяли випадковості їхнього розподілу та наявності кореляцій. Такий аналіз дозволяв виявити можливі порушення

припущень щодо нормальності чи гомоскедастичності, які є критично важливими для адекватності регресійної моделі.

Врахування розміру вибірки при оцінці якості. Під час оцінювання якості побудованих моделей ураховувався обсяг експериментальних даних, що був обмеженим у низці випадків. Це зумовлювало використання адаптивних методів оцінки точності, зокрема LOOCV, що дозволяє максимально ефективно задіяти наявну вибірку. При інтерпретації результатів акцент робився на обережному аналізі прогнозів у ділянках простору факторів з недостатнім числом точок, а також на перевірці стабільності моделі в умовах нерівномірного розподілу експериментальних даних. Такий підхід забезпечив обґрунтованість висновків і підвищив надійність оптимізаційних рішень.

2.7. Візуалізація моделей

Візуалізація є невід'ємною частиною аналізу регресійних моделей, оскільки дозволяє інтерпретувати результати моделювання, оцінити поведінку системи в багатовимірному просторі факторів і виявити оптимальні зони значень. У даній роботі застосовувалися різноманітні типи графіків, що супроводжували побудову моделей RSM, Ridge та GPR.

Побудова поверхонь відгуку. Для моделей будувались тривимірні поверхні відгуку. Візуалізація виконувалась шляхом зміни двох незалежних змінних у межах експериментального простору при фіксованому значенні третьої. Таким чином, для кожної вихідної величини було згенеровано поверхні (відповідно до кількості унікальних пар факторів). Побудова реалізована засобами `matplotlib` та `mpl_toolkits.mplot3d`.

Контурні та тривимірні графіки (Contour plots, 3D). Контурні діаграми використовувались для зручної ідентифікації екстремумів і плато на поверхнях відгуку. На кожній contour plot відображались ізолінії концентрацій з маркерами експериментальних точок, що дозволяло оцінити узгодженість моделі з реальними даними. Візуалізація виконувалась із використанням кольорової шкали для представлення рівнів значень.

Графіки часткових залежностей (Partial Dependence Plots, PDP). Для моделі GPR були згенеровані графіки часткової залежності, що дозволяють оцінити вплив кожного з факторів на цільову змінну за умов фіксації інших змінних. PDP-графіки особливо корисні при роботі з нелінійними моделями, де взаємодії між параметрами важко інтерпретувати аналітично.

Карти невизначеності (posterior std, expected improvement). Завдяки природній властивості моделі GPR оцінювати дисперсію прогнозу, були побудовані карти стандартного відхилення для кожного з виходів, що дозволяло локалізувати зони високої та низької впевненості. Додатково було побудовано карти очікуваного покращення (Expected Improvement), які дозволяють оцінити, в яких зонах доцільно проводити подальші експерименти. Такі діаграми особливо важливі при плануванні експериментів у режимі Bayesian Optimization.

Функції бажаності. Для моделей з декількома цільовими виходами, де є важливим одночасне максимізування декількох виходів, були реалізовані карти функцій бажаності. Вони дозволяли агрегувати результати в один об'єктивний показник бажаності та оцінити оптимальні регіони в просторі факторів. Візуалізація бажаності допомагала ідентифікувати компромісні зони, де одночасно досягається найвищий рівень всіх виходів.

2.8. Оптимізаційні підходи

Оптимізація умов біосинтезу у біотехнологічних дослідженнях дозволяє не лише підвищити ефективність процесів, а й визначити компроміс між конкуруючими цільовими функціями. У цій роботі були застосовані підходи як однокритеріальної, так і багатокритеріальної оптимізації, які реалізовано з використанням бібліотеки `scipy.optimize`.

Однокритеріальна оптимізація. Для кожного окремого цільового параметра проводився незалежний пошук максимального значення, виходячи з побудованої моделі. Цільова функція формувалась на основі передбачення регресійної моделі (наприклад, `ridge.predict` або `gpr.predict`) і мінімізувалась її обернена величина (для максимізації). Для цього застосовувались дві техніки:

- **Метод `scipy.optimize.minimize`** — локальний градієнтний пошук з обмеженнями, який використовувався як базовий підхід при відомому стартовому наближенні.
- **Метод `differential_evolution`** — глобальний евристичний підхід, який забезпечує ефективний пошук в умовах складних поверхонь відгуку з кількома екстремумами.

Багатокритеріальна оптимізація. При наявності кількох вихідних змінних оптимізація проводилась на основі агрегованої функції бажаності. Для кожної мети створювалась унітарна функція бажаності, нормалізована в діапазон $[0, 1]$, за принципом:

$$d(y) = \frac{y - y_{min}}{y_{max} - y_{min}}$$

Об'єднана мета бажаності формувалась як геометрична комбінація цих функцій. Оптимізація здійснювалась з тією ж реалізацією `minimize` або `differential_evolution`.

Урахування вартості у функціях бажаності. В моделі з *Bacillus subtilis* було реалізовано модифікацію багатокритеріальної оптимізації з урахуванням вартості поживного середовища. Для цього в функцію бажаності додатково включали нормалізований зворотний внесок вартості, що дозволило уникати надмірно дорогих комбінацій середовища, навіть якщо вони забезпечують максимальні виходи.

Інтерпретація результатів. Результати оптимізації подавались як у вигляді оптимальних значень факторів та прогнозованих виходів, так і у формі таблиць із порівнянням середніх, оптимізованих та базових рівнів продукції. Це дозволяло кількісно оцінити ефект від застосування кожного типу оптимізації та обґрунтувати вибір моделі для практичного впровадження.

2.9. Економічне моделювання

З метою досягнення практичної цінності біотехнологічної оптимізації, в одному з досліджень було реалізовано підхід, що поєднує біологічну ефективність та економічну доцільність. Така інтеграція дозволила забезпечити обґрунтованість параметрів середовища не лише з точки зору виходу продукту, але й із врахуванням собівартості реагентів.

Побудова моделі вартості середовища. Для кожного компонента середовища було визначено питому вартість на основі ринкових даних. Загальна вартість формулювання обчислювалась як:

$$C_{total} = \sum_{i=1}^n c_i \cdot x_i,$$

де c_i — вартість 1 грн/од.вим. i -го компонента, а x_i — його концентрація. Обрахунок здійснювався у вигляді окремої функції у програмному коді Python.

Агрегація виходу та вартості за допомогою функції бажаності. В загальну функцію бажаності було включено зворотну нормалізовану вартість середовища, тобто мінімізація цієї частини функції сприяла вибору більш економічно доцільних комбінацій. Наприклад:

$$d_{cost}(x) = 1 - \frac{C(x) - C_{min}}{C_{max} - C_{min}}$$

Загальна бажаність обчислювалась як середнє між бажаністю за продуктивністю та бажаністю за вартістю. Таким чином досягалось збалансоване рішення.

Пошук компромісного рішення (α -баланс). Окремо реалізовано механізм налаштування вагових коефіцієнтів між біологічними та економічними критеріями через параметр α . Це дозволяло варіювати ступінь впливу вартості на остаточне рішення. Оптимальні параметри обирались з урахуванням найкращого компромісу між вартістю середовища та рівнем цільових продуктів.

2.10. Інструменти реалізації математичних моделей

Реалізація математичного моделювання та обробка експериментальних даних виконувалась у середовищі Python із застосуванням спеціалізованих бібліотек, що забезпечили відтворюваність та ефективність усіх етапів дослідження — від підготовки даних до візуалізації та оптимізації.

Python-бібліотеки: scikit-learn, statsmodels, matplotlib, seaborn, scipy. Для реалізації моделей використовувались такі основні бібліотеки:

- `scikit-learn` — побудова моделей GPR, Ridge-регресії, а також виконання LOOCV, масштабування даних та створення пайплайнів;
- `statsmodels` — проведення класичного регресійного аналізу з побудовою моделі другого порядку та ANOVA-аналізом;
- `scipy.optimize` — реалізація функцій оптимізації з використанням методів `minimize` та `differential_evolution`;
- `matplotlib` і `seaborn` — візуалізація результатів: контурні діаграми, поверхні відгуку, графіки важливості ознак, PDP-графіки та ін.

Побудова конвеєрів моделювання (pipeline). Для регуляризованого моделювання використовувався підхід через Pipeline з бібліотеки `scikit-learn`. Типовий конвеєр включав:

1. Масштабування змінних за допомогою `StandardScaler`,
2. Генерація поліноміальних ознак (`PolynomialFeatures`, ступінь 2),
3. Побудова моделі Ridge-регресії з налаштованим коефіцієнтом регуляризації.

Цей підхід дозволив ефективно керувати складністю моделі та мінімізувати ефекти мультиколінеарності.

Реалізація оптимізації: `scipy.optimize.minimize`, `differential_evolution`. Оптимізаційні процедури реалізовувались із використанням:

- `minimize` (метод L-BFGS-B) — для знаходження локального оптимуму багатокритеріальної функції бажаності;
- `differential_evolution` — для пошуку глобального максимуму цільової функції, що враховує лише одну або кілька вихідних змінних.

Обидва методи показали високу ефективність у межах визначених обмежень факторів.

Реалізація GPR-моделей через `sklearn.gaussian_process`. Моделі GPR реалізовувались із використанням модуля `sklearn.gaussian_process`. Для побудови моделі використовувалось складене ядро у вигляді добутку `ConstantKernel` та `Matern (v=2.5)` із додаванням `WhiteKernel`. При цьому окремо обчислювались як прогнозовані значення, так і стандартні відхилення, що дозволяло проводити кількісний аналіз невизначеності.

РОЗДІЛ 3. МАРКЕТИНГОВИЙ АНАЛІЗ РИНКУ БІОПОЛІМЕРІВ І СУРФАКТАНТІВ ТА ОБҐРУНТУВАННЯ ОПТИМІЗАЦІЇ ЇХ ВИРОБНИЦТВА

3.1 Маркетингові дослідження ринку біосурфактантів

Згідно з наявними даними, у 2022 році обсяг ринку біосурфактантів оцінювався в 3,7 млрд доларів США з великим потенціалом для розвитку. Очікується, що він зростатиме із сукупним середньорічним темпом зростання 8,2% у період з 2023 по 2031 рік і досягне 7,5 млрд доларів США до кінця 2031 року [145].

В аналогічному дослідженні повідомлялось, що обсяг ринку біологічно активних поверхнево-активних речовин значно зріс за останні роки. Він зростає з 4,44 млрд доларів США у 2023 році до 4,85 млрд доларів США у 2024 році при сукупному середньорічному темпі зростання 9,2%. Прогнозується, що обсяг цього ринку досягне 6,87 млрд доларів США у 2028 році при сукупному середньорічному темпі зростання 9,1% [146].

Інше незалежне дослідження прогнозує, що світовий ринок біоПАР зростає з 4,65 млрд доларів США у 2024 році до 6,71 млрд доларів США до 2032 року, при сукупному середньорічному темпі зростання 5,4% за прогнозований період [147].

Фактичне зростання ринку біосурфактантів у першу чергу пов'язано з їх підвищеним використанням у фармацевтичній промисловості, збільшенням попиту на косметику, підвищенням гостроти екологічних проблем [148, 149], потреби переходу на екологічно чисті рішення у розвинутих країнах. За прогнозами експертів галузі ємність ринку біологічно активних поверхнево активних речовин продовжить тенденцію до зростання в найближчі кілька років [147].

Зростання обсягів ринку біосурфактантів у прогнозованих періодах, очевидно, пов'язано з активізацією науково-дослідницької діяльності, зростанням тренду до переходу на чисту та відновлювану енергетику, збільшенням попиту з боку сільськогосподарської галузі [146]. Ці дані свідчать про значний інтерес та інвестиції в сектор виробництва біосурфактантів, підкреслюючи їх важливість у

контексті біоекономіки. Важливим інструментом біоекономіки для оцінки сильних і слабких сторін продукту, його можливостей і загроз є SWOT-аналіз.

Відповідно, ми провели SWOT-аналіз ринку біосурфактантів (табл. 3.1).

Таблиця 3.1

SWOT аналіз ринку біосурфактантів

Сильні сторони:	Слабкі сторони:
<i>- Екологічна привабливість.</i> Біосурфактанти є екологічно чистими, здатні до біодеградації та низько токсичні, порівняно з їх синтетичними аналогами, що в першу чергу приваблює споживачів, які турбуються про навколишнє середовище. <i>- Великий потенціал для застосувань.</i> Біосурфактанти широко використовують у виробництві мийних засобів, нафтовій промисловості, фармацевтиці та сільському господарстві, що забезпечує перспективні можливості для зростання ринку. <i>- Швидкий розвиток технологій.</i> Наукові дослідження, розробки та інновації в галузі біотехнологій сприяють вдосконаленню методів виробництва біосурфактантів, що	<i>- Висока вартість виробництва.</i> Виробництво біосурфактантів вимагає значних інвестицій, включаючи дороге обладнання та висококваліфіковану робочу силу, що, як наслідок, призводить до вищої вартості біосурфактантів порівняно з їх синтетичними аналогами. <i>- Обмеження масового виробництва.</i> Поточні методи синтезу біосурфактантів мають відносно низьку продуктивність, що обмежує швидкість їх виходу на ринок та збільшує вартість. <i>- Строгі регуляторні вимоги.</i> Виробництво та використання біосурфактантів підлягає суворим регуляторним вимогам, що потребує значних часових та фінансових витрат для їх дотримання. <i>- Опір з боку великих компаній.</i> Великі виробники синтетичних ПАР не бажають переходити на біоПАР, оскільки вони вважають за краще дотримуватися

Продовження табл. 3.1

підвищує їх ефективність і знижує витрати.	своїх усталених виробничих процесів та бізнес-моделей, що ускладнює впровадження біосурфактантів для галузі.
Можливості: - <i>Зростаючий попит на екологічно чисті продукти.</i> Все більше споживачів та компаній надають перевагу екологічно чистим продуктам, що може стимулює збільшення попиту. - <i>Розвиток нових ринків.</i> Освоєння нових ринків, особливо у країнах, що розвиваються, та нові галузі, сприяє зростанню ринку. - <i>Співпраця та стратегічні альянси.</i> Співпраця компаній - виробників біосурфактантів та укладення стратегічних альянсів може допомогти подолати слабкі сторони та пришвидшити розвиток галузі.	Загрози: - <i>Висока конкуренція з боку синтетичних аналогів.</i> Синтетичні сурфактанти зазвичай дешевші та більш доступні, ніж біосурфактанти, що створює дуже значну конкуренцію на ринку. - <i>Низька обізнаність споживачів.</i> Не володіння інформацією з боку споживачів про переваги біосурфактантів сповільнює зростання ринку біосурфактантів. - <i>Економічна нестабільність.</i> Зміни на ринку можуть негативно вплинути на інвестиції в галузь.

* - SWOT аналіз складено на основі джерел [145-148, 150-154]

Сегментація ринку. Як видно з Рис. 3.1 на сьогодні у світі переважає використання синтетичних сурфактантів. Зокрема, у нафтохімічній промисловості велику кількість синтетичних поверхнево активних речовин застосовують, як агенти для очищення, обробки і транспортування нафтопродуктів. Як видно з діаграми, на частку біосурфактантів у загальному об'ємі припадає лише 4 %.

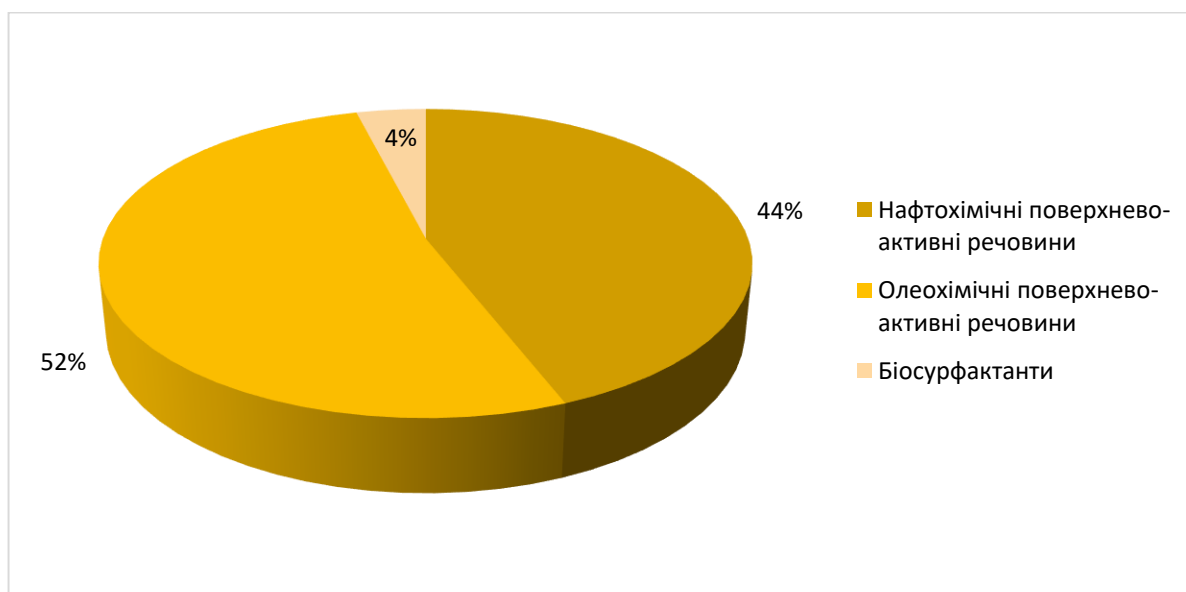


Рис. 3.1. Сегментація світового ринку сурфактантів [155]

На основі проведеного аналізу можна констатувати, що у синтезі біосурфактантів можуть бути зацікавлені різні виробники:

1. *Компанії-виробники детергентів та промислових мийних засобів:* виробники зацікавлені використовувати біогенні поверхнево активні речовини, в першу чергу, через їх екологічність та біодеградабельність, а також мультифункціональність.
2. *Компанії-оператори нафтохімічного обладнання:* використання біосурфактантів у складі біоцидних препаратів дозволяє запобігати біокорозії.
3. *Фармацевтичні компанії:* зацікавлені у використанні біосурфактантів для створення систем цільової доставки ліків, ад'ювантів для вакцин, антимікробних та антиоксидантних агентів, для створення наноемульсій та інноваційних покриттів.
4. *Виробники косметичних засобів:* виробники використовують біосурфактанти для створення різноманітних косметичних засобів, зокрема шампунів та кондиціонерів для волосся.
5. *Науково-дослідні організації:* університети, науково-дослідні інститути та інші наукові установи можуть проводити дослідження для створення препаратів різного цільового призначення: для медицини, для створення інноваційних

косметичних засобів, для використання у сільському господарстві як біоцидів та стимуляторів росту або створення інноваційних покриттів.

6. *Інвестиційні компанії*: інвестори та підприємства можуть бути зацікавлені у фінансуванні досліджень і розробок нових засобів на основі біосурфактантів, насамперед у фармацевтичній та косметичній галузях.

Отже, на підставі проведеного аналізу можна дійти висновку, що на сьогодні існують зацікавлені сторони в отриманні та активному застосуванні біосурфактантів.

Усі біосурфактанти за молекулярною масою можна поділити на дві великі групи: низькомолекулярні та високомолекулярні. Низькомолекулярні біосурфактанти включають ліпопептиди, гліколіпіди, жирні кислоти, тоді як високомолекулярні – полімери та тверді частинки [149]. Ліпопептиди та гліколіпіди є найбільш перспективними видами біогенних поверхнево активних речовин для фармацевтичної, терапевтичної та біотехнологічної промисловості. На Рис. 3.2 представлено сегментацію ринку біосурфактантів за їх видами.

Аналіз наявних на сьогодні даних показав (Рис. 3.2), що 80 % з усіх використовуваних на сьогодні біосурфактантів припадає на гліколіпіди. Найвідомішими з гліколіпідів є рамноліпіди та софороліпіди.

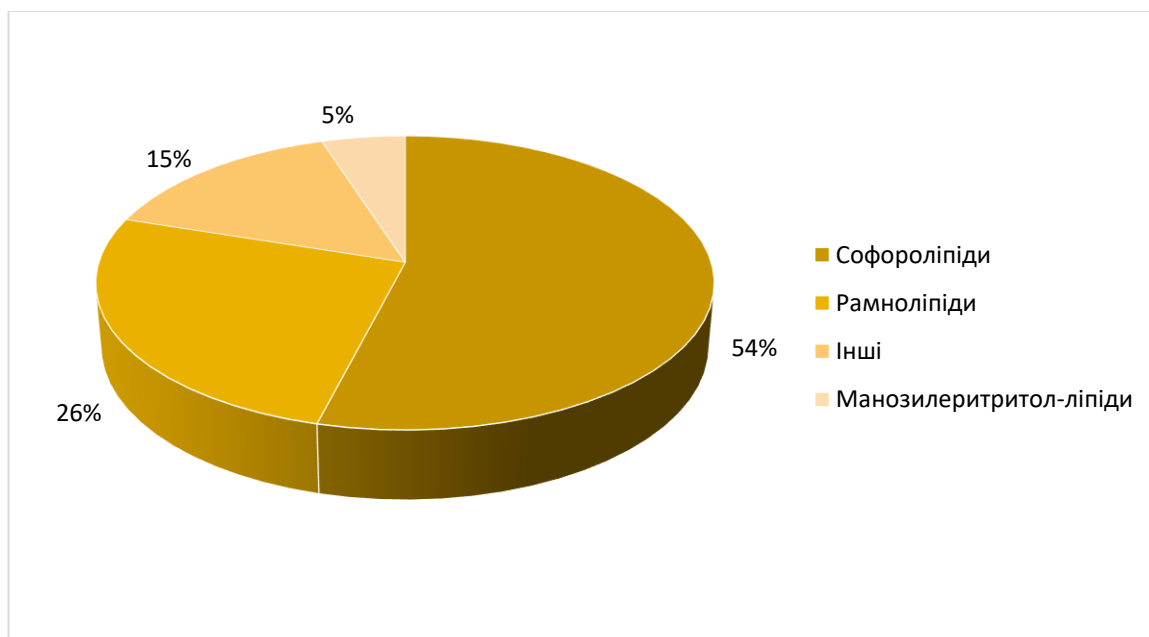


Рис. 3.2. Сегментація ринку біосурфактантів за видом [155]

Софороліпіди продукують дріжджі, вони складаються з димерного вуглеводу софорози, пов'язаного з довголанцюговою гідроксильованою жирною кислотою за допомогою глікозидного зв'язку [156]. Як можна побачити з представленої діаграми, частка софороліпідів у загальному обсязі біосурфактантів становить 54%. Рамноліпіди – позаклітинні метаболіти, що продукуються переважно умовно-патогенною бактерією *Pseudomonas aeruginosa* на різноманітних субстратах [157]. Їх частка на ринку становить 26%.

Софороліпіди мають низьку токсичність і високу біосумісність, що робить їх особливо привабливими для використання в косметичній, фармацевтичній та харчовій промисловості [149]. Вони проявляють антибактеріальну, антивірусну та протигрибкову активність, завдяки чому їх широко використовують в медицині. Крім того, софороліпіди є повністю біодеградабельними, що робить їх екологічно безпечними та знижує ризик забруднення навколишнього середовища. Їхня стабільність при різних температурних і рН умовах дозволяє використовувати їх у широкому спектрі промислових процесів [158].

Рамноліпіди, навпаки, мають дещо інші переваги та застосування. Вони відомі своєю здатністю ефективно руйнувати біоплівки, що робить їх корисними в очищенні промислового устаткування та у біоремедіації забруднених середовищ [149]. Рамноліпіди також використовуються в нафтовидобуванні для покращення видобутку нафти, завдяки їх здатності знижувати міжфазний натяг між водою та нафтою [159]. Однак, вища токсичність та дещо менша біосумісність порівняно з софороліпідами обмежують їх використання в деяких галузях, зокрема в тих, де існують високі вимоги щодо безпеки людини та збереження стану довкілля.

За прогнозами експертів галузі, найбільш швидкозростаючим у майбутньому буде сегмент ліпopeптидів [147]. Як показують дослідження, їх потенціал у відновленні навколишнього середовища надзвичайно високий. Ліпopeптиди вважаються перспективною альтернативою звичайним поверхнево активним речовинам завдяки своїй здатності до біологічного розкладання, низькій токсичності та здатності проявляти антимікробну активність [160].

Важливим фактором, що впливає на зростання ринку біосурфактантів, є зростання попиту споживачів на продукти, створені на біологічній основі, що пов'язано зі збільшенням наявного доходу споживачів. Виробники постійно оновлюють свій асортимент, щоб задовільнити зростаючі вимоги кінцевих споживачів [161]. Зрозуміло, що це, в свою чергу, призводить до збільшення споживання біосурфактантів.

У 2021 році Європа стала лідером на світовому ринку біосурфактантів, займаючи переважуючу частку приблизно 35% (Рис. 3.3) [161]. Така значна частка пояснюється високим споживанням біосурфактантів у цьому регіоні, головним чином через зростаючий попит з боку використання еко-мийних засобів.

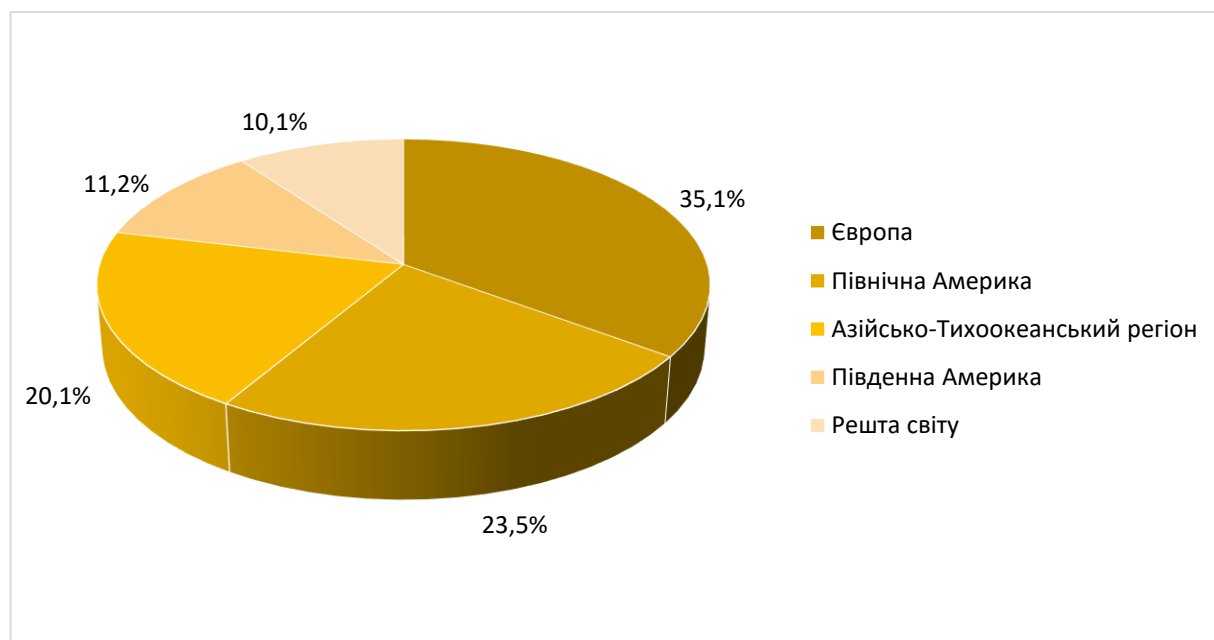


Рис. 3.3. Сегментація ринку біосурфактантів за географією [161]

Згідно з повідомленнями міжнародної асоціації мила, детергентів та засобів для догляду (A.I.S.E), галузь побутової хімії в Європі в 2020 році оцінювалася в 37 мільярдів доларів США [161]. Ця цифра вказує на значне зростання на 7,3% порівняно з попереднім роком, що свідчить про позитивну динаміку галузі. Одночасно сектор промислових мийних засобів у Європі також зазнав значного зростання, досягнувши оцінки в 10,1 мільярда доларів США. Це означає вражаюче

зростання на 22,22% порівняно з цифрами 2019 року, що ще раз підкреслює стійке зростання галузі мийних засобів в регіоні [161].

В ЄС виробництво мийних засобів регулюється Regulation (European Commission) No. 648/2004 of the European Parliament and of the Council of March 31, 2004 on Detergents [162] для забезпечення вільного руху поверхнево активних речовин та миючих засобів на ринку ЄС. Цей документ містить вимоги щодо безпечності для здоров'я людей та довкілля. Його основні риси об'єднують положення про повну біодеградабельність, конкретну інформацію про інгредієнти та дозування на етикетках, а також обмеження на вміст токсичних сполук [163].

У Сполучених Штатах схвалення та використання біологічно активних речовин у харчових продуктах регулюється Міністерством сільського господарства США і вимагає належного маркування або класифікації як «загальноновизнано безпечних». Біосурфактанти, такі як ті, що отримані з *Candida utilis*, включені до Кодексу федеральних нормативних актів у Розділі 21 (21CFR-172.590), що визнано Федеральним департаментом охорони здоров'я і соціальних служб та Управлінням з контролю за продуктами і ліками США. Ця нормативна база гарантує, що біологічно активні речовини відповідають стандартам безпеки для здоров'я людини, що дозволяє їх контрольоване використання в різних сферах, пов'язаних з харчовими продуктами [164].

У Китаї регулювання хімічних речовин, включаючи біологічно активні речовини, здійснюється Міністерством екології та охорони навколишнього середовища (МОНС) відповідно до Положення про екологічне управління новими хімічними речовинами згідно з Наказом МОНС № 12. Цей наказ зобов'язує виробників або імпортерів реєструвати нові хімічні речовини до їхнього виходу на ринок, причому тип реєстрації (звичайна, спрощена або облікова) залежить від обсягу виробництва або імпорту. Біологічно активні поверхнево-активні речовини, вироблені в кількості більше однієї тони на рік, повинні пройти реєстрацію, яка включає в себе оцінку ризиків для здоров'я людини і впливу на навколишнє середовище. Крім того, необхідно обов'язково подати дані про стійкість та токсичність речовини [165].

Регуляторні вимоги до біологічно активних речовин у розвинених країнах спрямовані на забезпечення безпеки для здоров'я людини та навколишнього середовища, хоча вони реалізуються по-різному. Ці нормативні документи встановлюють стандарти екологічної безпеки та біорозкладності біологічно активних речовин, забезпечуючи їх відповідність критеріям охорони навколишнього середовища.

Як вже зазначалось вище, нещодавні дослідження підтверджують, що біосурфактанти можуть бути ефективнішими за синтетичні поверхнево активні речовини [148, 149]. Порівняльне дослідження, проведене Jimoh та ін. 2020 продемонструвало, що ліпопептидний біосурфактант, виділений з *Paenibacillus* sp. D9, показав більш ніж 60% ефективність у видаленні плям від кави та томатного соусу порівняно з комерційними поверхнево активними речовинами [166]. Також, біосурфактант, отриманий з *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145, забезпечував видалення практично 100 % спеціального паливного мазуту B1, а також диспергування 98 % плям від автомобільного мастила на тканині [167].

Світова косметична промисловість поступово переорієнтовується на інноваційні інгредієнти, які мають менше побічних ефектів, а також є більш ефективними. Відповідно індустрія отримує вигоду від зростаючого попиту на такі засоби, а споживачі стають більш обізнаними про можливості цих продуктів.

Дослідження Rincon-Fontan та ін. 2020 показало стабілізацію вітаміну С шляхом введення екстракту біосурфактанта, отриманого в процесі мокрого помелу кукурудзи, у водний розчин L-аскорбінової кислоти. Вітамін С широко використовується в косметичній промисловості, відіграючи важливу роль у виробленні колагену та захисті шкіри. Дизайн Бокса-Бенкена показав, як різні концентрації вітаміну С і біосурфактанта, а також час зберігання впливають на деградацію вітаміну С. Біосурфактант значно пригнічував деградацію, зменшуючи її на 58% через 14 днів порівняно з розчинами без біосурфактанта [168].

З іншого боку, біосурфактанти часто використовують для створення біоцидних препаратів для сільського господарства та нафтохімії [150, 151]. Наприклад, показана ефективність використання гліколіпиду в якості екологічно

чистого біоциду при корозії вуглецевої сталі, яка широко застосовується в багатьох галузях газової та нафтової промисловості [169]. Відомо, що мікробна корозія становить 30-40% від загального обсягу проблем корозії в нафтогазовій промисловості [169].

Ще одним перспективним напрямом використання біосурфактантів є створення інноваційних покриттів, в основному для медичного текстилю. Дослідження Firdose та ін. 2023 показали захисну роль покриття на основі рамноліпідів проти формування біоплівки такими патогенами як *Enterococcus faecium* та *Acinetobacter baumannii*. Так, у концентрації 31,2 мкг/мл рамноліпіди зменшували концентрацію клітин *Enterococcus faecium* на поверхні на 91%, тоді як для зменшення клітин *Acinetobacter baumannii* на 76 % концентрація рамноліпідів була значно вища і становила 250 мкг/мл [170].

У Табл. 3.2 наведено інформацію щодо ринку продуктів на основі біосурфактантів.

Таблиця 3.2.

Ринок продуктів на основі біосурфактантів [147]

Аспект	Опис
Тип продукту	Гліколіпіди
	Фосфоліпіди
	Ліпопептиди
	Полімерні біосурфактанти
	Інші продукти
Застосування	Мийні засоби, в тому числі промислового застосування
	Косметичні засоби
	Агропрепарати
	Харчова промисловість
	Нафтохімія
	Текстиль (інноваційні покриття)

Продовження табл. 3.2

	Інше
Ланцюги постачання	Супермаркети/гіпермаркети
	Онлайн продажі
	Аптеки
	Спеціалізовані магазини косметики
Ключові гравці ринку	Evonic Industries AG (USA)
	BASF SE (Germany)
	Ecover (Germany)
	Jeneil (USA)
	Givaudan (Switzerland)
	GlycoSurf LLC (USA)
	Holiferm (UK)
	Stepan Company (USA)
	Tensiogreen (USA)
	Biotensidon GmbH (Germany)
	Saraya Co. Ltd (Japan)
	TeeGene Biotech (UK)
	WHEATOLEO (France)

Ще одним з найперспективніших на сьогодні вважається сегмент, пов'язаний із розробкою антимікробних лікарських засобів на основі біосурфактантів [149]. Синергічний ефект біогенних поверхнево активних речовин та антибіотиків продемонстрував Shusterman та ін. 2021 [171]. Він показав, що рамноліпіди у поєднанні з антибіотиками збільшували зони інгібування проти *E. coli* чотирьох із шести протестованих антибіотиків (ампіцилін, хлорамфенікол, еритроміцин, канаміцин і тетрациклін). У тестуванні проти *Bacillus megaterium* автори спостерігали збільшення зони інгібування для всіх шести протестованих антибіотиків [171]. У дослідженні Amirinejad та ін. 2023 було показано, що

гліколіпід, синтезований водоростями *Shewanella*, проявляє антимікробні властивості як самостійно, так і при застосуванні разом з ципрофлоксацином і гентаміцином, причому при одночасному застосуванні з гентаміцином або ципрофлоксацином була досягнута ефективність 99% у порушенні біоплівки [172].

На сьогодні ринок біосурфактантів є консолідований і його значну ємність займає п'ятірка ключових гравців. Як видно з Табл. 2 лідерами ринку біосурфактантів є Evonik Industries AG, BASF SE, Ecover, Jeneil та Givaudan [145]. Як зазначалося вище, найбільша частка ринку біосурфактантів у 2024 році припадає на Європу, в основному на Німеччину, Велику Британію, Францію та Італію [147]. Це зумовлено як розвинутою хімічною, фармацевтичною та нафтогазовою промисловістю, так і підвищенням обізнаності населення щодо принципів сталого розвитку [146]. Ще однією причиною такого зростання є розроблення інноваційних продуктів, оскільки між виробниками існує конкуренція за збереження інтересу споживачів [161]. Проте, аналітики ринку вважають, що до 2029 року найвищі темпи росту ринку біосурфактантів спостерігатимуть в Азіатсько-Тихоокеанському регіоні, що пов'язано як із збільшенням населення, так і рівня їх життя [173].

3.2 Аналіз виробництва та використання біогенних поверхнево активних речовин в Україні

На сьогодні в Україні дослідження біосурфактантів мають переважно академічний характер і сконцентровані, в основному на отриманні рамноліпідів. Станом на 2024 рік, в Україні нема жодного промислового підприємства, яке займається серійним випуском цих біоПАР. Причини цього банальні:

- висока вартість масштабованої ферментації та відсутність відповідних біореакторів в достатньому обсязі;
- регуляторні бар'єри, зумовлені необхідністю реєстрації біоПАР як нових біологічно активних речовин для потенційного використання в харчовій, фармацевтичній та аграрній сферах;

- недостатній рівень трансферу технологій з академічного сектора до малого і середнього бізнесу;
- відсутність відповідних державних програм біотехнологічного стимулювання, які присутні в ЄС.

Тому існує потреба у розробленні технологій виробництва біогенних поверхнево активних речовин та їх масштабування.

Виробництва, які орієнтуються на використанні у своїй продукції біосурфактантів змушені закуповувати їх через відповідні міжнародні платформи, доставка яких з врахуванням ускладненої на сьогодні логістики може сягати 200-300 доларів/кг.

Проте, Україна має достатній потенціал як для виробництва біосурфактантів, так і для їх використання. Враховуючи той факт, що Україна є серйозним світовим гравцем з виробництва сільськогосподарської продукції, то існує перспектива використання біосурфактантів, в першу чергу, в аграрному секторі, як біопестицидів та стимуляторів росту рослин.

Іншим перспективним напрямком застосування цих біоПАР є очищення забруднених ґрунтів, зокрема, в зонах, що постраждали від бойових дій. Ще одним напрямом може бути промисловий сектор, що орієнтується на виробництво еко-безпечної побутової хімії.

Проте усі ці напрями обмежені складністю інтеграції біопродукту у технологічні процеси, відсутністю сертифікованих виробників, а також низькою екологічною свідомістю споживачів.

Розв'язати ці проблеми можна за рахунок запуску малих пілотних виробництв на базі університетів, розробленні відповідних стандартів в рамках технічного регулювання та адаптації до норм ЄС, кооперації з бізнесом, зокрема аграрним, і застосуванні біодобрив, залученні фінансування через відповідні цільові програми. Ще одним важливим кроком може стати генетична інженерія відповідних штамів, наприклад, *P. putida*, зменшуючи ризики, пов'язані з патогенністю *P. aeruginosa*.

Як підсумок, можна запропонувати SWOT-аналіз українського ринку біосурфактантів та полімерів мікробного походження (Табл. 3.2).

Таблиця 3.3.

**SWOT-аналіз українського ринку біосурфактантів та полімерів
мікробного походження**

Сильні сторони Високий науковий потенціал у галузі мікробіології та біотехнології. Доступність субстратів для ферментації (глюкоза, гліцерин, відходи сільськогосподарського виробництва). Циркулярні моделі виробництва з використанням вторинної сировини (відходи біодизельної промисловості). - Відповідні розробки та дослідження у сфері біосурфактантів.	Слабкі сторони Відсутність промислового виробництва на національному рівні. Висока собівартість виробництва через невеликий масштаб і відсутність оптимізованої біореакторної інфраструктури. Обмежений попит на ринку через низьку обізнаність кінцевих споживачів. Нестача сертифікації та відсутність регламентованих стандартів.
Можливості Зростаючий попит на екологічно чисті продукти в агро, косметичній та харчовій промисловості. Можливість залучення фінансування від Horizon Europe, ЄБРР, USF, ООН. Перспективи використання генно-модифікованих безпечних штамів (наприклад, <i>P. putida</i> замість <i>P. aeruginosa</i>). Екологічна ремедіація забруднених ґрунтів на постраждалих територіях — стратегічний ринок.	Загрози Конкуренція з боку великих міжнародних виробників (Evonik, Jeneil Biotech, Holiferm). Потенційні регуляторні бар'єри при легалізації застосування в сільському господарстві та фармації. Військові ризики та нестабільність логістичних ланцюгів. Відсутність інтегрованої державної політики біоінновацій.

Висновки до розділу 3

Маркетингові дослідження показали, що у загальній структурі ринку сурфактантів частка біогенних поверхнево активних речовин є доволі незначною і становить лише 4 %. Попри це, глобальний ринок біосурфактантів щороку збільшується і має перспективи до подальшого зростання. Таке зростання зумовлене унікальним характеристикам біосурфактантів та розробці інноваційних продуктів на їх основі. Дослідження ринку підтвердили, що основні застосування біосурфактантів характерні для виробництва мийних засобів, косметичних та фармацевтичних продуктів, у нафтохімії та сільському господарстві. Серед усіх біосурфактантів найчастіше використовують софороліпіди і рамноліпіди, частки яких відповідно становлять 54 і 26 %.

Основними бар'єрами для широкого впровадження біосурфактантів є висока виробнича собівартість та обмеження у масовому виробництві. Суворі регуляторні вимоги та опір виробників синтетичних поверхнево-активних речовин також перешкоджають широкому впровадженню біологічно активних речовин. Незважаючи на ці слабкі сторони, зростаючий попит на органічні продукти та можливості на ринках країн, в тому числі України, пропонують значний потенціал для зростання.

Досягнення в галузі біотехнологій сприяють підвищенню ефективності виробництва біосурфактантів, зниженню витрат та пошуку доступних джерел поживного середовища, що в підсумку підсилює їх конкурентоспроможність на ринку.

Основними загрозами для розвитку сектору біосурфактантів є значна конкуренція з боку дешевших синтетичних аналогів, недостатня поінформованість споживачів про переваги біосурфактантів, а також економічна нестабільність, що може стримувати інвестиційну активність у галузі.

Тому одним із ключових завдань сучасної біотехнології є розроблення біоінженерних підходів для оптимізації процесів синтезу мікробних полімерів і біосурфактантів. Реалізація таких рішень має суттєве прикладне значення, оскільки

сприяє створенню економічно доцільних і екологічно безпечних технологій виробництва.

Результати опубліковані в:

- Yanvarov Y. B., Havryliak V. V. Biosurfactants: structure, functions and productions // *Biotechnologia Acta*. – 2022. – Vol. 15, No 6. – P. 26-35.
- Yanvarov Ye. B., Havryliak V. V. MARKET ANALYSIS OF MICROBIAL SURFACTANTS // *Biotechnologia Acta*. – 2024. – Vol. 17, No 5. – P. 5-13.

РОЗДІЛ 4. БАГАТОЦІЛЬОВА ОПТИМІЗАЦІЯ ВИРОБНИЦТВА БІОСУРФАКТАНТІВ ШТАМОМ *BACILLUS SUBTILIS* GSP16 З УРАХУВАННЯМ ЕКОНОМІЧНОЇ ЕФЕКТИВНОСТІ

Виробництво біосурфактантів, зокрема сурфактину, є перспективним напрямом сучасної біотехнології завдяки їхній високій біоактивності, екологічній безпечності та потенціалу замінити синтетичні аналоги в різних галузях промисловості. Однак масштабування таких процесів стикається з низкою технологічних та економічних обмежень, пов'язаних із високою вартістю середовищ культивування та потребою у точному контролі параметрів ферментації. Особливо критичним стає забезпечення стабільного й високого виходу біопродукту при мінімально можливих витратах на сировину та енергію.

Для підвищення ефективності виробничого процесу необхідно розробити математичну модель, яка дозволить прогнозувати вихід сирого біосурфактанту залежно від технологічних параметрів, а також одночасно враховувати економічні аспекти процесу. Такий підхід вимагає поєднання методів емпіричного моделювання, зокрема методології поверхні відгуку, з економічною оцінкою витрат середовища, а також з аналізом кінетичних залежностей між швидкістю росту біомаси та концентрацією субстрату на основі моделей Моно та Халдейна.

Дослідження виконано на базі даних, отриманих у виробничих умовах на приватному підприємстві, що спеціалізується на ферментативному синтезі поверхнево-активних речовин із використанням штаму *B. subtilis* GSP16. До уваги взято такі змінні параметри: температура, швидкість перемішування, концентрація гліцеролу, рівень рН середовища та кількість дріжджового екстракту. Крім того, для кожної комбінації було визначено собівартість середовища, що дозволило провести оптимізацію за багатьма критеріями одночасно.

З огляду на викладене, у цьому розділі сформульовано наступні задачі:

- побудувати квадратичну модель поверхні відгуку для прогнозування сирого біосурфактанту залежно від п'яти факторів;

- розрахувати економічну функцію, що відображає собівартість середовища на одиницю продукції;
- провести незалежну оптимізацію кожного з критеріїв (сирий біосурфактант та вартість), а також їхню багатокритеріальну оптимізацію на основі зваженої функції бажаності;
- оцінити кінетичні характеристики росту мікроорганізму залежно від концентрації гліцеролу на основі кінетичних моделей Моно та Халдейна;
- здійснити порівняльний аналіз емпіричної та механістичної моделей з точки зору практичної застосовності в умовах масштабування.

4.1. Експериментальна база для моделювання

Моделювання у межах цього дослідження ґрунтується на серії експериментальних даних, отриманих у виробничих умовах на приватному підприємстві, що займається комерційним виробництвом біосурфактантів. Об'єктом дослідження виступає штам *B. subtilis* GSP16 — грампозитивний мікроорганізм, відомий своєю здатністю синтезувати циклічні ліпопептиди типу сурфактину з вираженою поверхневою активністю та антибактеріальними властивостями.

Середовище для культивування було сформовано на основі компонентів, які мають значний вплив на біосинтетичну активність штаму. Основні контрольовані параметри включали:

- **Температура культивування** (25–35 °C), яка впливає на ферментативну активність і швидкість метаболізму;
- **Швидкість перемішування** (200–250 об/хв), яка визначає рівень гомогенізації та насичення киснем;
- **Концентрація дріжджового екстракту** (0–8 г/л), що є джерелом азоту та вітамінів;
- **Концентрація гліцеролу** (20–60 г/л), основне вуглецеве джерело;
- **pH середовища** (6,5–7,5), що впливає на активність ферментів і доступність іонів.

Загалом було отримано 48 експериментальних точок зі складом середовища відповідно до центрального композиційного плану (Таблиця 4.1). Для кожної комбінації умов було експериментально визначено:

- **Сирий біосурфактант (%)**, як основний продуктивний показник;
- **Вартість середовища (грн)**, розрахована на основі вартості компонентів у перерахунку на задану концентрацію.

Таблиця 4.1.

Дизайн експерименту в кодованих значеннях фактора

№	Температура	Швидкість перемішування	Дріжджовий екстракт	Гліцерол	pH	Сирий біосурфактант
1	-1.0	-1.0	-1.0	-1.0	-1.0	1.6
2	-1.0	-1.0	-1.0	-1.0	1.0	1.1
3	-1.0	-1.0	-1.0	1.0	-1.0	1.9
4	-1.0	-1.0	-1.0	1.0	1.0	1.4
5	-1.0	-1.0	1.0	-1.0	-1.0	1.7
6	-1.0	-1.0	1.0	-1.0	1.0	1.3
7	-1.0	-1.0	1.0	1.0	-1.0	1.9
8	-1.0	-1.0	1.0	1.0	1.0	1.5
9	-1.0	1.0	-1.0	-1.0	-1.0	1.4
10	-1.0	1.0	-1.0	-1.0	1.0	1.0
11	-1.0	1.0	-1.0	1.0	-1.0	1.9
12	-1.0	1.0	-1.0	1.0	1.0	1.7
13	-1.0	1.0	1.0	-1.0	-1.0	1.9
14	-1.0	1.0	1.0	-1.0	1.0	1.9
15	-1.0	1.0	1.0	1.0	-1.0	2.3
16	-1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	2.0
17	1.0	-1.0	-1.0	-1.0	-1.0	1.5
18	1.0	-1.0	-1.0	-1.0	1.0	1.2
19	1.0	-1.0	-1.0	1.0	-1.0	1.9
20	1.0	-1.0	-1.0	1.0	1.0	1.9
21	1.0	-1.0	1.0	-1.0	-1.0	2.5
22	1.0	-1.0	1.0	-1.0	1.0	2.1
23	1.0	-1.0	1.0	1.0	-1.0	2.5
24	1.0	-1.0	1.0	1.0	1.0	1.7
25	1.0	1.0	-1.0	-1.0	-1.0	1.7
26	1.0	1.0	-1.0	-1.0	1.0	1.1
27	1.0	1.0	-1.0	1.0	-1.0	2.5
28	1.0	1.0	-1.0	1.0	1.0	1.8
29	1.0	1.0	1.0	-1.0	-1.0	2.8
30	1.0	1.0	1.0	-1.0	1.0	2.5
31	1.0	1.0	1.0	1.0	-1.0	2.8

Продовження табл. 4.1

32	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	2.4
33	-1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.5
34	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.8
35	0.0	-1.0	0.0	0.0	0.0	2.5
36	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	2.7
37	0.0	0.0	-1.0	0.0	0.0	2.5
38	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	3.0
39	0.0	0.0	0.0	-1.0	0.0	2.1
40	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	2.9
41	0.0	0.0	0.0	0.0	-1.0	2.8
42	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	2.4
43	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.1
44	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.0
45	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.1
46	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.0
47	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.6
48	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.9

Наявність такого набору експериментальних точок забезпечила можливість формалізації процесу біосинтезу за допомогою емпіричних і механістичних моделей, що дозволяє перейти до побудови прогнозної системи з подальшою оптимізацією.

4.2. Побудова моделі з використанням методології поверхні відгуку (RSM)

RSM була використана для побудови емпіричної моделі, що описує залежність виходу сирого біосурфактанту (%) від п'яти технологічних факторів: температури, швидкості перемішування, концентрації дріжджового екстракту, концентрації гліцеролу та рН середовища. План експерименту було реалізовано у формі центрального композиційного дизайну з модифікацією CCF, що забезпечило симетричне охоплення області дослідження навколо центральної точки.

Загальна кількість експериментальних комбінацій склала 48, включаючи повторення центральних точок для оцінки відтворюваності. Для кожної комбінації було експериментально визначено сирий біосурфактант, а також розраховано відповідну вартість середовища.

Модель прогнозування виходу будувалась у вигляді квадратичного рівняння, що включає лінійні, квадратичні та попарні взаємодії між факторами. Для оцінювання параметрів моделі було використано метод найменших квадратів (OLS) із подальшим статистичним аналізом значущості коефіцієнтів (Таблиця 4.2). Отримана модель виявилась адекватною за результатами F-тесту та мала високий коефіцієнт детермінації ($R^2 = 0,95$) та скоригований коефіцієнт детермінації ($\text{Adj. } R^2 = 0,913$), що вказує на хорошу відповідність моделі до експериментальних даних.

Всі фактори були приведені до безрозмірного кодованого вигляду, що дозволило уніфікувати масштабування та провести оптимізацію в межах нормалізованого простору. Зазначимо, що модель виявила також статистично значущі ефекти взаємодії, зокрема між температурою та концентрацією дріжджового екстракту, а також між гліцеролом і pH.

Таблиця 4.2

Статистичні параметри моделі

	coef	std err	t	P> t 	0,025	0,975
Intercept	2,8787	0,051	56,8	0	2,775	2,983
temperature	0,1971	0,031	6,459	0,0001	0,134	0,26
agitation	0,1235	0,031	4,049	0,0001	0,061	0,186
yeast_extract	0,2559	0,031	8,387	0,0001	0,193	0,318
glycerol	0,1647	0,031	5,399	0,0001	0,102	0,227
pH	-0,1941	0,031	-6,363	0,0001	-0,257	-0,132
temperature × agitation	0,0188	0,031	0,596	0,556	-0,046	0,083
temperature × yeast_extract	0,1	0,031	3,18	0,004	0,035	0,165
temperature × glycerol	-0,0187	0,031	-0,596	0,556	-0,083	0,046
temperature × pH	-0,025	0,031	-0,795	0,434	-0,09	0,04
agitation × yeast_extract	0,0875	0,031	2,782	0,01	0,023	0,152
agitation × glycerol	0,0438	0,031	1,391	0,176	-0,021	0,108
agitation × pH	0,0125	0,031	0,397	0,694	-0,052	0,077
yeast_extract × glycerol	-0,125	0,031	-3,975	0,0001	-0,19	-0,06
yeast_extract × pH	0,0063	0,031	0,199	0,844	-0,058	0,071
glycerol × pH	-0,0125	0,031	-0,397	0,694	-0,077	0,052
temperature ²	-0,1752	0,113	-1,547	0,133	-0,407	0,057
agitation ²	-0,2252	0,113	-1,989	0,057	-0,457	0,007
yeast_extract ²	-0,0752	0,113	-0,664	0,512	-0,307	0,157
glycerol ²	-0,3252	0,113	-2,873	0,008	-0,557	-0,093
pH ²	-0,2252	0,113	-1,989	0,057	-0,457	0,007

Таким чином, модель RSM дозволила не лише формалізувати залежності між технологічними параметрами та продуктивністю, але й слугувала основою для подальшої оптимізації процесу.

4.3. Інтерпретація впливу окремих факторів

Побудована модель поверхні відгуку другого порядку дозволила кількісно оцінити вплив кожного з п'яти незалежних факторів — температури, швидкості перемішування, концентрації дріжджового екстракту, гліцеролу та pH — на рівень синтезу сирого біосурфактанту штамом *B. subtilis* GSP16. Інтерпретація коефіцієнтів моделі, а також візуальний аналіз відповідних поверхонь відгуку дають змогу виявити як лінійні ефекти, так і квадратичні залежності та міжфакторні взаємодії.

Температура виявилась важливим фактором із чітко вираженим нелінійним впливом. Згідно з квадратичним членом моделі, синтез біосурфактанту максимізується в діапазоні 32–34 °C, після чого спостерігається зниження продуктивності. Це може бути зумовлено термолабільністю ферментних систем, що беруть участь у біосинтезі. Перевищення температурного оптимуму може також індукувати стресові відповіді клітин, спрямовані на виживання, а не на синтез вторинних метаболітів.

Швидкість перемішування має позитивний, але помірний вплив, що, ймовірно, пов'язано з покращенням масообміну і доступом до розчиненого кисню. Проте при надмірному підвищенні швидкості перемішування можливе зростання зсувного навантаження, що негативно впливає на клітинну цілісність — цей ефект частково відображений у негативному квадратичному члені моделі.

Дріжджовий екстракт є основним джерелом азоту та мікроелементів, і має найбільший позитивний вплив серед усіх досліджуваних факторів. Особливо яскраво цей вплив проявляється в комбінації з гліцеролом, що свідчить про важливість збалансованого забезпечення як джерелами вуглецю, так і азоту. Поза межами концентрації 8 г/л, приріст ефективності знижується, що підтверджується насиченням кривої відгуку.

Вплив **гліцеролу** має чітку параболічну залежність: оптимальний рівень біосурфактанту досягається при концентрації близько 40 г/л, тоді як подальше підвищення призводить до інгібування процесу. Цей ефект цілком узгоджується з кінетичним моделюванням за моделлю Халдейна, де було показано, що надмірна концентрація гліцеролу знижує питому швидкість росту через субстратне інгібування.

pH середовища виявився критичним регулятором процесу. Згідно з результатами моделі, найвищий вихід спостерігається в діапазоні 6,7–7,0. Зміщення pH у кислу або лужну сторону призводить до помітного зниження синтезу, що може бути пов'язано як із інактивацією ферментних систем, так і з порушенням мембранної стабільності. Наявність сильного негативного квадратичного ефекту вказує на вузьке вікно оптимуму, що потребує точного контролю під час ферментації.

Загалом, результати моделі підтверджують складну, але керовану природу біотехнологічного процесу отримання сирого біосурфактанту. Одержані залежності можуть бути використані для розробки стратегії оптимального живлення та керування процесом з урахуванням як біологічних обмежень, так і економічної доцільності.

4.4. Побудова та аналіз поверхонь відгуку

Використовуючи модель другого порядку, побудовану на основі центрального композитного дизайну, було виконано побудову поверхонь відгуку для всіх можливих пар факторів при фіксованих середніх значеннях інших змінних (ДОДАТОК Г). Це дозволило візуалізувати просторові залежності між змінними та виявити області синергії або антагонізму, які не завжди очевидні з аналізу коефіцієнтів моделі.

Кожна поверхня представлена у вигляді двовимірної контурної діаграми та тривимірної поверхні (Рис 4.1), що демонструє зміну цільової функції — сирого біосурфактанту — залежно від варіацій двох факторів. При цьому решта факторів залишались зафіксованими на нульовому (центральному) рівні, що відповідає

реалістичним умовам ферментації. Такий підхід забезпечує цілісне розуміння простору параметрів та дозволяє приймати обґрунтовані рішення щодо подальшої оптимізації.

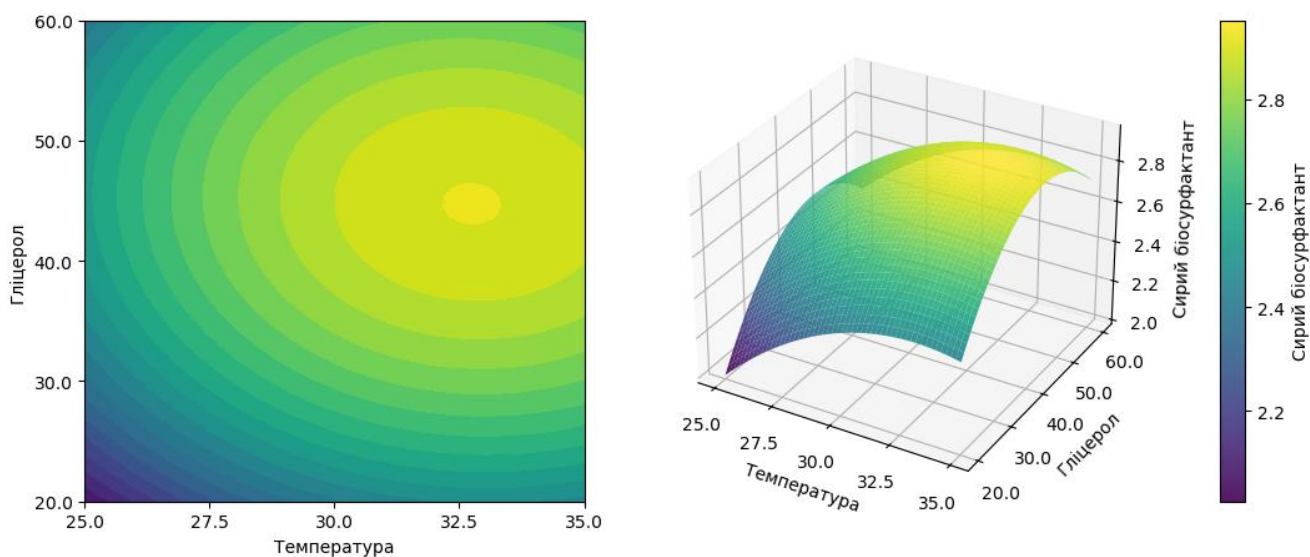


Рис 4.1. Контурна діаграма та поверхня відгуку з фактором гліцеролу та температури.

Температура та рН мають помітну взаємодію: при оптимальному рН (6,8–7,0) підвищення температури до 32–34 °С сприяє збільшенню сирого біосурфактанту. Водночас, при зміщенні рН за межі оптимуму, температурна чутливість зростає і його кількість знижується.

Гліцерол та дріжджовий екстракт мають комбінований позитивний ефект, що підтверджує гіпотезу про необхідність збалансованого забезпечення клітини джерелами вуглецю та азоту. Поверхня має чітко виражений максимум, що дозволяє точно визначити оптимальні концентрації обох субстратів.

Швидкість перемішування у поєднанні з іншими змінними демонструє помірні ефекти. В більшості графіків не спостерігалось різких градієнтів у напрямку цього фактора, що вказує на відносну стійкість системи до помірних змін швидкості перемішування в досліджуваному діапазоні.

Графіки підтвердили нелінійність відгуку системи, наявність локальних максимумів та сильну залежність від поєднаних ефектів. Це підкреслює перевагу

використання методології поверхні відгуку, яка дозволяє побачити багатовимірну природу впливу факторів, недоступну в рамках однофакторного аналізу.

Отримані поверхні відгуку були використані для визначення області глобального оптимуму, що стало основою для подальшої оптимізації з урахуванням економічних факторів.

4.5. Оптимізація умов без урахування економічних показників

Оптимізація сирого біосурфактанту штамом *B. subtilis* GSP16 була виконана на основі моделі поверхні відгуку другого порядку, що враховувала лінійні, квадратичні та двофакторні взаємодії між п'ятьма експериментальними факторами.

На основі кодованих значень факторів була сформульована повна модель у вигляді:

$$Y = 2,87 + 0,1971 \cdot X_1 + 0,1235 \cdot X_2 + 0,2559 \cdot X_3 + 0,1647 \cdot X_4 - 0,1941 \cdot X_5 + 0,0188 \cdot X_1 \cdot X_2 + 0,1 \cdot X_1 \cdot X_3 - 0,0187 \cdot X_1 \cdot X_4 - 0,025 \cdot X_1 \cdot X_5 + 0,0875 \cdot X_2 \cdot X_3 + 0,0438 \cdot X_2 \cdot X_4 + 0,0125 \cdot X_2 \cdot X_5 - 0,125 \cdot X_3 \cdot X_4 + 0,0063 \cdot X_3 \cdot X_5 - 0,0125 \cdot X_4 \cdot X_5 - 0,1752 \cdot X_1^2 - 0,2252 \cdot X_2^2 - 0,0752 \cdot X_3^2 - 0,3252 \cdot X_4^2 - 0,2252 \cdot X_5^2,$$

де Y — прогнозований сирий біосурфактант, X_i — кодовані значення факторів, β — коефіцієнти моделі. Формула була реалізована за допомогою модуля `statsmodels.formula.api.ols` у Python.

Завдання максимізації сирого біосурфактанту було реалізовано як задачу безумовної оптимізації в п'ятивимірному кодованому просторі факторів, з обмеженням кожної змінної в межах $[-1; +1]$, що відповідає фізично реалізованим межам. Була сформульована цільова функція:

$$f(x) = -Y(x),$$

де $Y(x)$ — прогноз моделі при заданих кодованих значеннях x . Мінус у функції був доданий для перетворення задачі максимізації в задачу мінімізації, яку обробляє функція `scipy.optimize.minimize`.

Оптимізація здійснювалася методом обмеженого градієнтного пошуку (L-BFGS-B), який дозволяє враховувати межі змінних і ефективно знаходить

локальний мінімум навіть у багатовимірному просторі. Початковою точкою слугувала координата центру (0, 0, 0, 0, 0), що відповідає середньому рівню кожного фактора. Як альтернатива, проводилась перевірка результатів із різними стартовими точками для уникнення попадання у нецільовий локальний мінімум.

Після декодування координат оптимуму до реальних значень факторів були отримані такі умови:

- Температура: 34,5 °C
- Швидкість перемішування: 237,5 об/хв
- Дріжджовий екстракт: 8,0 г/л
- Гліцерол: 41,6 г/л
- рН середовища: 6,77
- Прогнозований сирий біосурфактант: 3,29 %
- Прогнозована вартість: 72,16 грн

Ця конфігурація відповідає глобальному максимуму моделі в допустимому просторі експерименту.

Отримане рішення демонструє високу ефективність ферментації, проте передбачає використання максимальних концентрацій дорогих компонентів середовища (зокрема, джерела азоту — дріжджового екстракту), що ускладнює його застосування на стадії промислового впровадження. Тому ця оптимізація може розглядатися як референсна точка продуктивності, до якої варто прагнути за умови економічної доцільності. З цією метою подальший аналіз був присвячений балансуванню між економічними та біотехнологічними критеріями, що описано у наступному підпункті.

4.6. Багатокритеріальна оптимізація з урахуванням вартості

Хоча максимізація сирого біосурфактанту є цільовим показником ефективності біопроцесу, реальна практична цінність технології значною мірою залежить також від економічної доцільності її реалізації. У промислових умовах надмірне споживання дорогих компонентів або енергоносіїв може зробити навіть дуже продуктивний процес збитковим. Тому постає завдання багатокритеріальної

оптимізації, яка одночасно враховує максимізацію сирого біосурфактанту та мінімізацію вартості середовища.

Багатокритеріальна оптимізація була сформульована як оптимізація з двома об'єктами:

- $Y(x)$ — модельна функція, що прогнозує сирий біосурфактант за значеннями п'яти факторів;
- $C(x)$ — функція вартості середовища, побудована аналітично на основі реальних цін складників.

Обидві функції описуються як неперервні та диференційовані у просторі кодованих змінних $x=[x_1, x_2, x_3, x_4, x_5] \in [-1, 1]^5$. Ці змінні відповідають, відповідно, температурі, швидкості перемішування, концентрації дріжджового екстракту, гліцеролу та pH.

Оскільки обидві функції мають різну природу (одна максимізується, інша мінімізується), була використана агрегована функція бажаності у вигляді зваженої суми нормалізованих показників:

$$Score(x) = \alpha \cdot D_Y(x) + (1-\alpha) \cdot D_C(x),$$

де:

- $D_Y(x)$ — нормалізована функція бажаності для сирого біосурфактанту (максимізація),
- $D_C(x)$ — нормалізована функція бажаності для вартості (мінімізація),
- $\alpha \in [0, 1]$ — ваговий коефіцієнт, що визначає пріоритети оптимізації.

Для приведення обох функцій до єдиної шкали $[0, 1]$ були використані такі перетворення:

- Для сирого біосурфактанту:

$$D_Y(x) = \frac{Y(x) - Y_{min}}{Y_{max} - Y_{min}},$$

- Для вартості:

$$D_C(x) = \frac{C_{max} - C(x)}{C_{max} - C_{min}},$$

де Y_{min} , Y_{max} та C_{min} , C_{max} — мінімальні та максимальні значення кожної цільової функції.

Таким чином, обидві мети були перетворені на функції бажаності, що підлягають максимізації.

Оптимізаційна задача була реалізована у Python за допомогою бібліотеки `scipy.optimize.minimize`. Було створено функцію `objective_multi`, яка реалізує мінус функції бажаності, що дозволяє використовувати стандартний алгоритм `minimize`, який шукає мінімум). Кожна точка x в кодованому просторі трансформується у `DataFrame` і передається до оптимізатора:

```
def objective_multi(x, model_dry_residue, alpha=0.5):
    df_pred = pd.DataFrame([ {
        'temperature': x[0],
        'agitation': x[1],
        'yeast_extract': x[2],
        'glycerol': x[3],
        'pH': x[4]
    } ])
    y = model_dry_residue.predict(df_pred)[0]

    decoded = {
        'temperature': decode_value(x[0], 25, 35),
        'agitation': decode_value(x[1], 200, 250),
        'yeast_extract': decode_value(x[2], 0, 8),
        'glycerol': decode_value(x[3], 20, 60),
        'pH': decode_value(x[4], 6.5, 7.5)
    }

    c = compute_cost(pd.Series(decoded))
```

```

y_norm = normalize_dry_residue(y)
c_norm = normalize_cost(c)

score = alpha * y_norm + (1 - alpha) * c_norm
return -score # Мінімізуємо мінус метрики

```

Пошук оптимуму виконано в обмеженнях $[-1, 1]$, із початковою точкою у центрі (нульовий вектор). Методом оптимізації було обрано «L-BFGS-B», що враховує границі та є стійким до шуму моделі. Для забезпечення відтворюваності результатів фіксувалося значення random seed.

За значенням $\alpha = 0,5$ (рівноважне врахування обох критеріїв), були знайдені такі оптимальні умови:

- Температура: 30 °C
- Швидкість перемішування: 225 об/хв
- Дріжджовий екстракт: 4 г/л
- Гліцерол: 40 г/л
- рН середовища: 7
- Прогнозований сирий біосурфактант: **2,88 %**
- Прогнозована вартість: **42,13 грн**

У порівнянні з попереднім варіантом (максимізація лише сирого біосурфактанту), нова конфігурація демонструє зниження продуктивності приблизно на 12,5%, але економію вартості на 41%. Важливим є те, що модель пропонує вдвічі знизити дріжджовий екстракт, що є одним з найдорожчих компонентів. Таким чином, варто дослідити можливість використання дешевших джерел азоту.

4.7. Кінетичне моделювання росту культури

Задля глибшого аналізу фізіологічної поведінки штаму *B. subtilis* GSP16 було проведено кінетичне моделювання росту біомаси на основі експериментальних даних, отриманих упродовж культивування в різних варіантах середовищ. Хоча

склад компонентів середовища у цьому моделюванні частково відрізняється від складу, використаного в моделі RSM, обидва підходи базуються на одному й тому ж штамі, що забезпечує узгодженість біологічної основи аналізу.

Була проведена оцінка впливу концентрації гліцеролу на специфічну швидкість росту за допомогою моделей Моно та Халдейна (Рис 4.2). Модель Халдейна виявилася більш адекватною при високих концентраціях гліцеролу, демонструючи наявність субстратного інгібування, що може бути критичним фактором при масштабуванні виробництва. У середовищах із вмістом гліцеролу понад 60 г/л спостерігалася ознака інгібування росту, що є типовим ефектом надлишку субстрату. Було визначено значення питомої швидкості мікробного росту $\mu_{\max}$ і константи насичення K_s , що складають відповідно 19,99 діб⁻¹ і 9,9995 г/л.

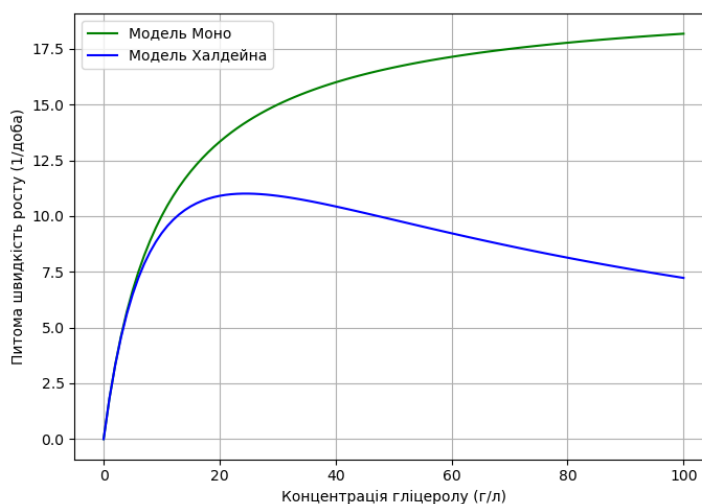


Рис 4.2. Кінетичне моделювання з використанням моделей Моно та Халдейна

Кінетична модель у цьому випадку доповнює результати оптимізації, надаючи уявлення про залежність швидкості росту від концентрацій гліцеролу.

Таким чином, кінетичне моделювання не лише підтвердило загальні закономірності росту культури, але й дало змогу сформулювати гіпотези щодо механізмів, що обмежують продуктивність при певних концентраціях гліцеролу. У поєднанні з результатами моделі RSM, це забезпечує ширше розуміння біопроцесу.

Висновки до розділу 4

У цьому розділі було проведено моделювання з використанням RSM моделі для опису синтезу сирого біосурфактанту штамом *Bacillus subtilis* GSP16 та проведено економічну оптимізацію поживного середовища. Модель враховувала вплив п'яти основних факторів середовища (температура, швидкість перемішування, концентрації дріжджового екстракту, гліцеролу та pH) на вихід сирого біосурфактанту.

На основі центрального композитного дизайну типу FCC та методології поверхні відгуку було побудовано поліноміальну модель другого порядку для прогнозування сирого біосурфактанту. Оцінку рівня впливу компонентів середовища було перевірено за допомогою ANOVA, що підтвердило їх статистичну значущість та адекватність.

Інтерпретація окремих факторів дозволила виявити, що найбільший позитивний вплив на сирий біосурфактант мають концентрації дріжджового екстракту та гліцеролу, а найбільш негативний – зниження pH середовища. Виявлено значущі ефекти взаємодії між деякими факторами, зокрема між гліцеролом і дріжджовим екстрактом.

Проведено кінетичне моделювання росту культури, що дозволило краще зрозуміти динаміку біомаси упродовж культивування. Логістична модель росту, а також моделі Моно та Халдейна для опису впливу гліцеролу на швидкість росту підтвердили наявність субстратного інгібування на високих концентраціях. Ці результати можуть бути корисними для масштабування процесу біосинтезу.

Побудовано поверхні відгуку та контурні графіки, які дозволили візуалізувати простір параметрів і виявити області оптимальних умов. Такі графіки дозволили візуалізувати та глибше зрозуміти принцип впливу факторів на процес біосинтезу.

Здійснено однокритеріальну оптимізацію, яка дозволила визначити комбінацію параметрів для максимізації сирого біосурфактанту без урахування економіки. Оптимальні умови включали температуру 34,5 °C, високу концентрацію гліцеролу (≈ 41 г/л) та дріжджового екстракту (≈ 8 г/л), що забезпечувало прогнозований вихід сирого біосурфактанту на рівні 3,29 %.

Запропоновано багатокритеріальну оптимізацію, яка враховує одночасно економічну доцільність та біологічну ефективність процесу. Було реалізовано оптимізаційний підхід, що дозволяє знайти компроміс, завдяки одночасній максимізації виходу сирового біосурфактанту і мінімізації вартості середовища. Оптимізаційна модель продемонструвала здатність зменшити витрати на 41% зі збереженням прийнятного рівня продуктивності.

Результати опубліковані в:

- Январьов Є. Б., Гавриляк В. В. Використання методу поверхні відгуку у біотехнології // Біологія тварин. - 2023. - Т. 25, № 2 : Тези доповідей XXI Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених, присвяченої 100-річчю від дня народження доктора біологічних наук, професора Василя Юхимовича Шавкуна, 18-19 травня 2023 року, м. Львів, Україна. – С. 82.
- Январьов Є. Б., Гавриляк В. В. Модель Моно для оцінювання кінетики росту мікроорганізмів, які продукують поверхнево-активні речовини/ Актуальні питання біотехнології, екології та природокористування : матеріали міжнародної наукової конференції, 25-26 квітня 2024 р. – 2024. – С. 81-82.
- Yanvarov Y. B., Havryliak V. V. MODELING OF BIOSURFACTANT SYNTHESIS USING BACILLUS SPP // Chemistry, Technology and Application of Substances. – 2024. – Vol. 7, No. 1. – P. 177-182.

РОЗДІЛ 5. АЛЬТЕРНАТИВНІ ПІДХОДИ ДО ОПТИМІЗАЦІЇ БІОСИНТЕЗУ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН І ПОЛІМЕРІВ БЕЗ ЗАСТОСУВАННЯ ДИЗАЙНУ ЕКСПЕРИМЕНТУ

5.1. Загальна характеристика альтернативних експериментальних підходів

У цьому розділі представлено два незалежних експерименти, кожен з яких спрямований на моделювання та оптимізацію мікробного синтезу біопродуктів із застосуванням сучасних математичних підходів. Експерименти відрізняються як за типом продуцента, так і за використовуваними методами аналізу, але об'єднуються спільною метою – побудовою моделей, що дозволяють описати вплив технологічних факторів на вихід цільових метаболітів, а також визначити оптимальні умови культивування.

Для реалізації першого моделювання було використано експериментальні дані, наведені у роботі О.В. Карпенко, присвяченій створенню біотехнологій поверхнево-активних речовин з поліфункціональними властивостями [174]. У дослідженні використовувався штам *Pseudomonas* sp. PS-17, відомий своєю здатністю синтезувати біосурфактанти. Як вихідні параметри розглядалися абсолютно суха біомаса (АСБ), концентрація рамноліпідів (РЛ) та рівень екзополісахаридів (ЕПС). В якості змінних впливу використовували концентрацію гліцеролу, натрій нітрату та натрій цитрату. Хоча в згаданій роботі було застосовано методологію поверхні відгуку, специфіка отриманого масиву даних — зокрема його нерівномірність та відсутність класичної факторіальної структури— відкриває простір для апробації інших підходів до моделювання. У межах цього дослідження було запропоновано використати більш гнучкі методи аналізу, здатні враховувати конфігурацію вхідних спостережень без необхідності приведення їх до ортогонального або симетричного дизайну. З цієї причини для моделювання було обрано підхід ridge-регресії з поліноміальним розширенням ознак другого порядку, що дозволив врахувати потенційну мультиколінеарність між факторами і водночас забезпечити регуляризацию моделі. Такий вибір є обґрунтованим з точки зору стабільності параметрів при обмеженій кількості точок. Для оцінки точності були

побудовані графіки порівняння прогнозованих та реальних значень, поверхні відгуку у 2D та 3D форматах, а також проведено оптимізацію кожного показника окремо та багатокритеріальну оптимізацію за допомогою функції бажаності.

Об'єктом вивчення був процес біосинтезу ПГА штамом *R. ruber* UCM Ac-288. Попри те, що в дослідженні було успішно охарактеризовано вплив концентрацій фруктози та натрій нітрату на біосинтез ПГА і біомасу, структура наявних даних не відповідала класичним принципам факторіального планування. Застосування традиційних методів моделювання було обмежене кількістю експериментів. Факторами були: концентрація фруктози та натрій нітрату. В якості вихідних параметрів аналізувалась біомаса (г/л) та вміст полімеру (г/л). Для моделювання було застосовано GPR, що є потужним інструментом для побудови предиктивних моделей на малих вибірках з високим рівнем гнучкості та можливістю оцінки невизначеності прогнозу. GPR дозволив не лише побудувати згладжену поверхню відгуку, а й візуалізувати зони високої дисперсії (невизначеності), а також сформулювати зважену стратегію оптимізації з урахуванням обох відповідей. Завдяки цьому GPR не тільки дозволив побудувати згладжену поверхню відгуку для обох відповідей (біомаса та ПГА), але й виявив області простору, де варто зосередити подальші експерименти. Така особливість робить цей метод особливо корисним для планування досліджень із максимально ефективним використанням ресурсів.

Таким чином, у межах розділу здійснено порівняльний аналіз двох підходів — регуляризованої поліноміальної Ridge-регресії та гаусового процесу — для обробки експериментальних даних з мікробного синтезу, що відображає наукову новизну та адаптивність обраних методів до умов біотехнологічної практики.

5.2. Моделювання та оптимізація синтезу біосурфактантів штамом *Pseudomonas* sp. PS-17

У цьому дослідженні здійснено математичне моделювання процесу синтезу біопродуктів штамом *Pseudomonas* sp. PS-17 з метою виявлення впливу трьох основних технологічних факторів: концентрації гліцеролу, натрій нітрату та натрій

цитрату. Як цільові параметри були обрані показники абсолютно сухої біомаси (АСБ), концентрації рамноліпідів (РЛ) і рівень утворення екзополісахаридів (ЕПС), які виступають як ключові характеристики у виробництві біосурфактантів і супутніх продуктів.

Для побудови моделей застосовано ridge-регресію — регуляризований варіант лінійної регресії, стійкий до мультиколінеарності серед предикторів. Такий підхід був обґрунтований тим, що в обраній системі фактори потенційно можуть взаємодіяти на хімічному рівні, зумовлюючи колінеарність у вхідних даних.

Моделі будувалися за допомогою пайплайну, який включав стандартизацію змінних, генерацію поліноміальних ознак другого порядку та власне регресійне навчання з параметром регуляризації $\alpha = 1,0$. Кожна вихідна змінна моделювалася незалежно, що дозволило отримати три окремі моделі для АСБ, РЛ та ЕПС.

На основі побудованих моделей було створено серію графіків, включаючи двовимірні контурні діаграми та тривимірні поверхні відгуку для всіх пар факторів. Для кожного такого зображення третій фактор фіксувався на середньому значенні. Ці графіки надали змогу оцінити не лише вплив кожного фактора окремо, а й характер взаємодій між ними. Наприклад, встановлено, що вихід рамноліпідів має максимальні значення при помірній концентрації гліцеролу (~30 г/л) і вищому вмісті натрій цитрату, тоді як для АСБ більш суттєвим є рівень натрій нітрату.

Подальша оптимізація кожного з трьох виходів здійснювалася окремо за допомогою метаввристичного методу — алгоритму диференціальної еволюції. Для кожного цільового показника знайдено комбінацію факторів, що забезпечує максимальний прогнозований рівень. Результати наведені у вигляді узагальненої таблиці та можуть використовуватись як орієнтири для повторного лабораторного тестування або масштабування.

Крім окремої оптимізації, проведено багатокритеріальний пошук з використанням агрегованої функції бажаності, яка поєднувала нормалізовані значення трьох вихідних показників з однаковими вагами. Цей підхід дозволив знайти компромісне рішення, що забезпечує високі значення всіх трьох параметрів одночасно. Порівняння з середніми значеннями моделей показало істотне

покращення — зокрема, для рамноліпідів вихід збільшився на понад 60% відносно базового рівня.

Додатково було проведено класичний регресійний аналіз (OLS) для кожного виходу з розширеною аналітикою, що включала коефіцієнти регресії, рівні значущості (p-value) та коефіцієнти детермінації. Це дозволило перевірити статистичну обґрунтованість моделей і зробити висновки щодо внеску кожного фактора.

Таким чином, застосування регресії з Ridge регуляризацією у поєднанні з графічною візуалізацією та оптимізаційними підходами забезпечило надійну основу для оцінки продуктивності *Pseudomonas* sp. PS-17 в умовах варіативного середовища, що, в свою чергу, дозволяє оптимізувати технологічні параметри в напрямку збільшення виходу цільових продуктів.

Вхідні змінні, експериментальні точки, вихідні показники. У межах моделювання біосинтезу біосурфактантів штамом *Pseudomonas* sp. PS-17 було використано набір експериментальних даних, отриманих в умовах варіативних параметрів середовища. Дослід передбачав зміну трьох незалежних змінних: концентрації гліцеролу, концентрації натрій нітрату та концентрації натрій цитрату. Вибір саме цих параметрів зумовлений їх відомим впливом на вуглецевий, азотний і буферний баланс середовища, що, у свою чергу, визначає рівень метаболічної активності мікроорганізму-продуцента.

Загалом було отримано 19 незалежних експериментів, в яких варіювалися зазначені три фактори в межах, що забезпечують життєздатність клітин та активне продукування біосурфактантів. Такий підхід дозволив охопити значну частину робочого простору умов культивування.

У кожному експерименті реєструвалися три основні вихідні показники, що комплексно характеризують продукцію мікробних метаболітів:

- **АСБ (абсолютно суха біомаса)**, г/л — слугує індикатором загального росту мікроорганізмів у середовищі;
- **РЛ (рамноліпіди)**, г/л — основна мішень процесу як низькомолекулярні біосурфактанти з високою активністю;

- **ЕПС (екзополісахариди)**, г/л — вторинні продукти, які мають значення для в'язкості середовища та стабільності емульсій.

Ці три змінні не є незалежними за своєю природою, адже усі є результатом метаболічної активності тієї самої клітини за заданих умов. Водночас, їх спільний аналіз дозволяє глибше оцінити ефективність біосинтезу як з точки зору кількості біомаси, так і продукції цільових поверхнево-активних речовин. Саме тому модель будувалася окремо для кожного з виходів, а також застосовувався багатокритеріальний підхід для знаходження компромісного оптимуму.

Побудова поліноміальних моделей ridge-регресії. У зв'язку з тим, що отримані експериментальні дані не були зібрані відповідно до класичного дизайну експерименту, було прийнято рішення використати метод ridge-регресії для побудови узагальненої моделі. Цей підхід дозволяє ефективно працювати з реальними, неструктурованими даними, забезпечуючи стабільність оцінювання регресійних коефіцієнтів навіть у присутності помірної мультиколінеарності між факторами.

Для кожного з трьох вихідних показників — абсолютно сухої біомаси (АСБ), рамноліпідів (РЛ) та екзополісахаридів (ЕПС) — було побудовано окрему модель другого порядку, що включала лінійні, квадратичні та попарні взаємодійні члени. Попередньо дані було масштабовано до нульового середнього та одиничної дисперсії за допомогою стандартизації, що є обов'язковим етапом перед застосуванням регуляризованих методів, таких як ridge-регресія.

На відміну від класичної OLS-регресії, ridge-регресія передбачає введення штрафу за великі значення коефіцієнтів, що дозволяє уникнути надмірного навчання та збільшити узагальнювану здатність моделі. Значення параметра регуляризації було зафіксоване на рівні 1,0, як типове початкове значення, що забезпечує помірний ступінь згладжування. Усі три моделі було побудовано за допомогою конвеєра (pipeline), який включав стандартне масштабування, побудову поліноміальних ознак другого ступеня та застосування самого ridge-регресора.

Візуалізація результатів показала, що побудовані моделі адекватно відтворюють загальні тенденції та локальні особливості простору вихідної функції.

Для кожної комбінації пар вхідних факторів (гліцерол, натрій нітрат, натрій цитрат) було побудовано контурні діаграми з ізолініями, а також тривимірні поверхні відгуку. Такі графіки дозволяють інтерпретувати характер взаємодій між факторами, а також встановити області, що забезпечують максимальні виходи кожного з цільових продуктів.

Загалом, ridge-регресія продемонструвала стабільність при моделюванні трьох залежностей, а результати оптимізації (описані далі) підтвердили її практичну цінність для аналізу біотехнологічних процесів на основі обмеженого набору неструктурованих даних.

Побудова та аналіз поверхонь відгуку. Після побудови регресійних моделей для кожного з трьох вихідних показників було виконано візуалізацію відповідних поверхонь відгуку. Для цього використовувалась сітка значень в просторі двох змінних при фіксованому середньому значенні третього фактору. Це дозволило побудувати як контурні діаграми з ізолініями, так і тривимірні графіки типу «поверхня», що відображають характер функціональної залежності вихідної величини від пари змінних.

Контурні діаграми були особливо корисними для виявлення напрямків зміни виходу продукту при варіації двох факторів. Наприклад, у випадку моделювання рамноліпідів (РЛ) спостерігалось чітке максимальне плато в області середніх концентрацій гліцеролу (~30 г/л) та підвищеного вмісту концентрації натрій нітрату. Для абсолютно сухої біомаси (АСБ) залежність мала більш м'який характер, з менш вираженим максимумом, що свідчить про її меншу чутливість до змін у складі середовища. У свою чергу, поверхня екзополісахаридів (ЕПС) виявила дещо складнішу топологію, з помітними нелінійностями та значущими ефектами взаємодії між факторами.

Тривимірні графіки були згенеровані у парі з контурними, відображаючи ті ж комбінації факторів. Це надало змогу краще інтерпретувати геометрію простору відгуку: було виявлено, що в деяких випадках існують локальні максимуми, які не збігаються з глобальним максимумом, що підтверджує важливість комплексного

аналізу. На графіках було позначено експериментальні точки, що додатково дозволяло оцінити ступінь відповідності моделі реальним спостереженням.

Вплив концентрації натрій нітрату та гліцеролу на вихід АСБ. На рисунку (рис. 5.1) помітно виражену позитивну залежність продукції біомаси від концентрації обох факторів. Зокрема, в області низької концентрації гліцеролу (15–25 г/л) та низької концентрації натрій нітрату (1–3 г/л) значення АСБ становить лише 1,8–2,0 г/л. Із збільшенням концентрації гліцеролу до 35–40 г/л та концентрації натрій нітрату до 5–6 г/л, прогнозоване значення АСБ зростає до 2,6–2,64 г/л, що можна розглядати як локальний максимум. Ізолінії мають еліптичну форму, витягнуту вздовж осі гліцеролу, що свідчить про сильніший вплив цього фактору порівняно з натрій нітратом.

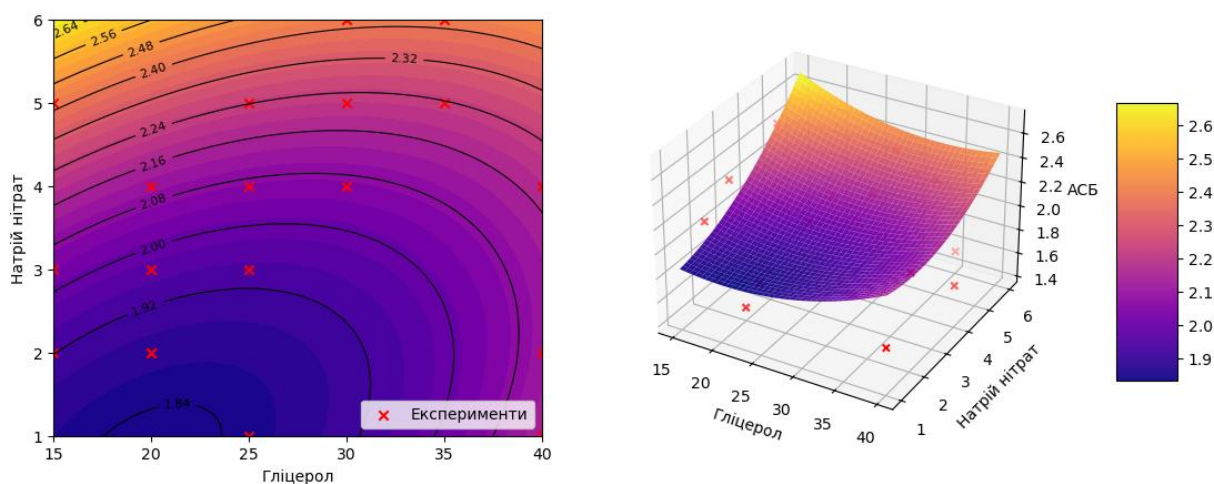


Рис. 5.1 Вплив концентрації натрій нітрату та гліцеролу на вихід АСБ

Вплив концентрації натрій цитрату та гліцеролу на вихід АСБ. Графік поверхні (рис. 5.2) показує підвищення АСБ до 2,3 г/л у зоні високих концентрацій обох компонентів — гліцеролу (понад 35 г/л) та натрій цитрату (4–5 г/л). У центрі площини (гліцерол 20–30 г/л, натрій цитрат 2–3 г/л) формується помірне плато з рівнем АСБ приблизно 1,8–2,0 г/л. Ізолінії дещо вигнуті в напрямку вісі гліцеролу, що вказує на його домінуючий вплив, тоді як надлишкові концентрації натрій цитрату без зміни концентрації гліцеролу не призводить до зростання продукції.

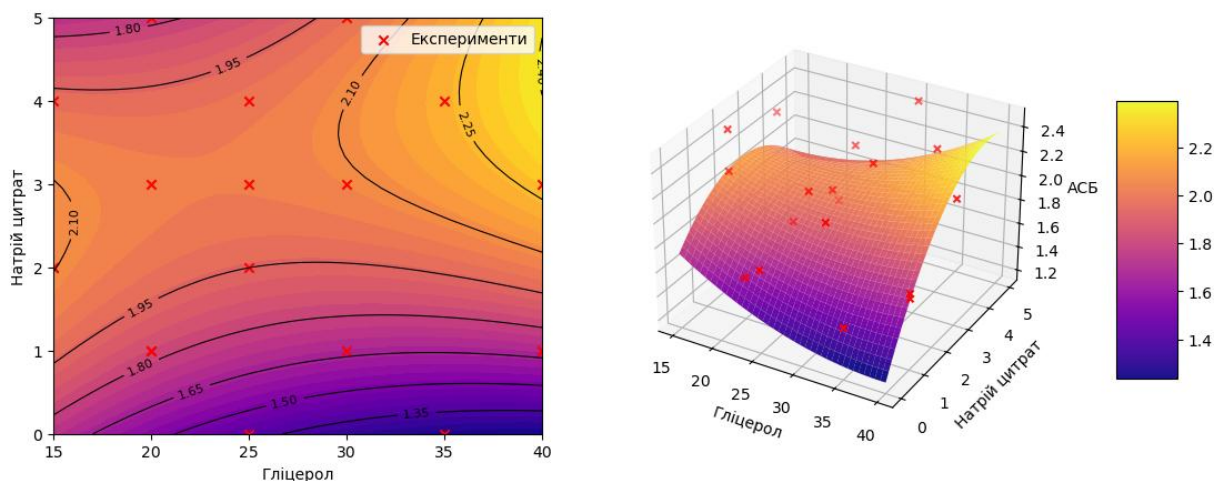


Рис. 5.2. Вплив концентрації натрій цитрату та гліцеролу на вихід АСБ

Вплив концентрації натрій цитрату та натрій нітрату на вихід АСБ.
Поверхня відгуку (рис. 5.3) демонструє максимальні значення біомаси в межах 2,4 г/л, що досягаються при концентрації натрій нітрату вище 5 г/л та концентрації натрій цитрату у межах 3–5 г/л. У середньому діапазоні концентрацій обох факторів (натрій нітрат 3–4 г/л, натрій цитрат 2–3 г/л) поверхня залишається на рівні приблизно 2,0–2,2 г/л, формуючи розтягнуту плато-подібну область. Поверхня має плавний нахил з чітко помітним підйомом у напрямку високих концентрацій обох компонентів, а орієнтація ізоліній свідчить про виражений вплив натрій нітрату як домінуючого фактора в цій взаємодії.

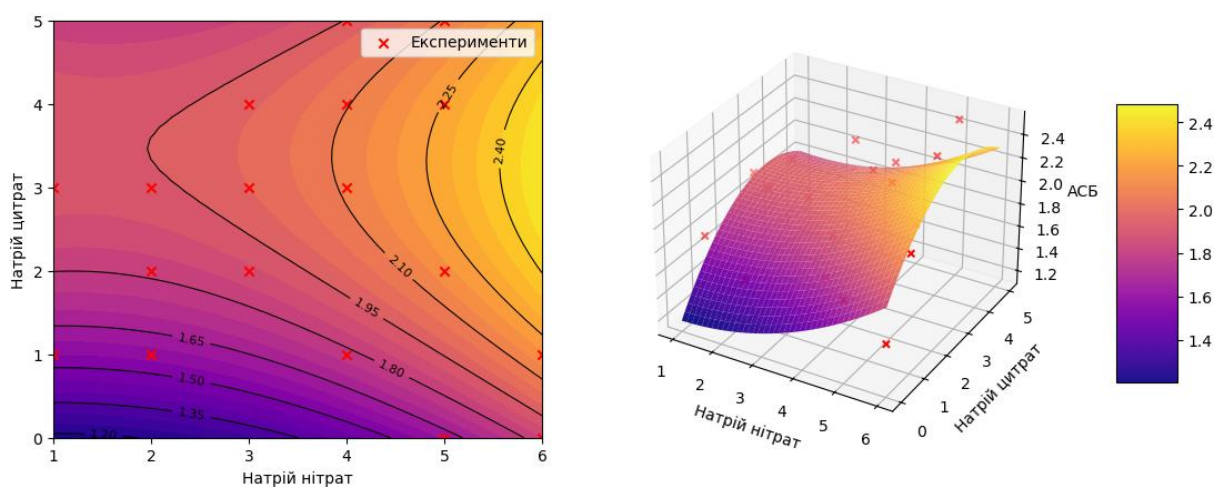


Рис. 5.3. Взаємодія натрій цитрату та натрій нітрату на вихід АСБ

Вплив концентрації натрій нітрату та гліцеролу на вихід РЛ. На поверхні (рис. 5.4) помітний чітко виражений максимум (5,0 г/л), що спостерігається у правому верхньому куті поверхні, коли концентрація гліцеролу досягає 35–40 г/л, а концентрація натрій нітрату — 5–6 г/л. Ізолінії мають чітку дугоподібну форму з центром у зоні найвищих значень, що вказує на сильну позитивну взаємодію між обома факторами у напрямку підвищення концентрацій. Поверхня загалом має вигляд монотонного підйому без локальних перепадів.

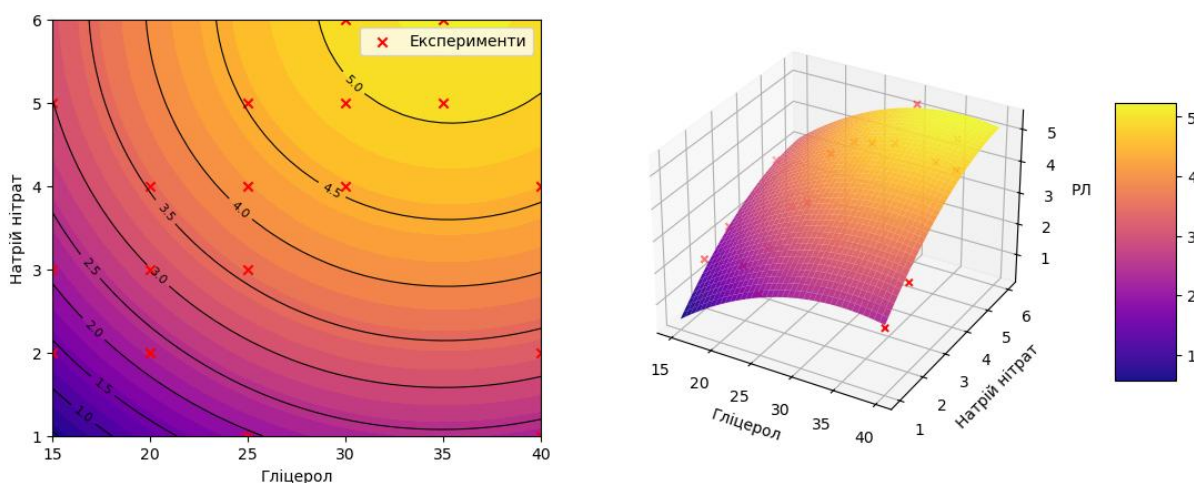


Рис 5.4. Вплив концентрації натрій нітрату та гліцеролу на вихід РЛ

Вплив концентрації натрій цитрату та гліцеролу на вихід РЛ. На поверхні (рис. 5.5) спостерігається чітко окреслений максимум, що досягає рівня близько 4,5 г/л при концентрації гліцеролу 30–35 г/л та концентрації натрій цитрату близько 2–3 г/л. Центральна зона поверхні сформована у вигляді широкого підвищення, де рівень РЛ стабільно утримується в межах 4,0–4,5 г/л. Ізолінії навколо цієї області мають майже концентричну форму, що свідчить про симетричну відповідь системи на зміну концентрації обох факторів поблизу оптимуму. В зоні підвищених концентрацій натрій цитрату (>4 г/л) чи гліцеролу (>38 г/л) поверхня поступово вирівнюється, утворюючи плавний схил без різких перепадів.

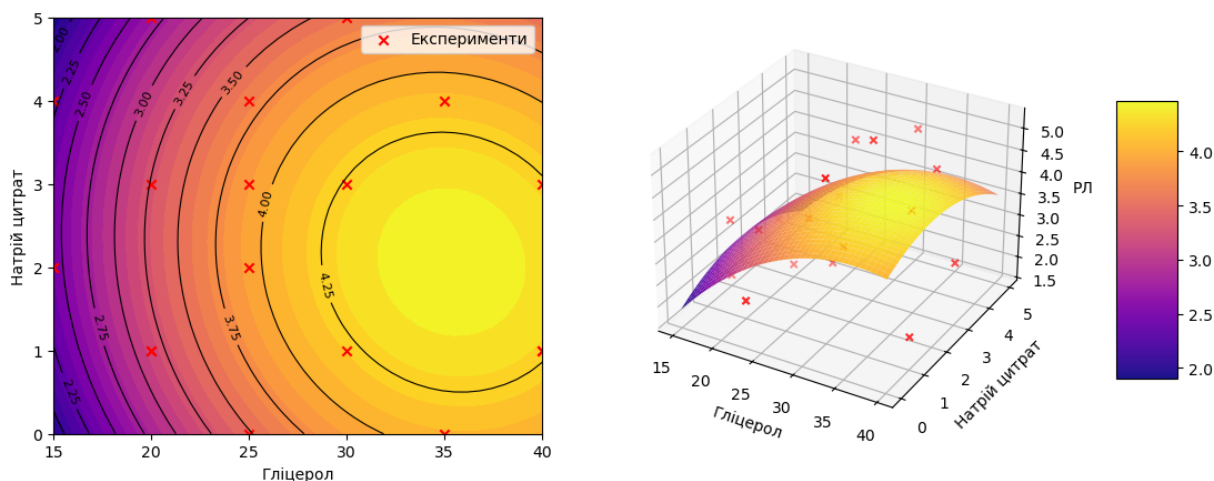


Рис. 5.5. Вплив концентрації натрій цитрату та гліцеролу на вихід РЛ

Вплив концентрації натрій цитрату та натрій нітрату на вихід РЛ. На поверхні (рис. 5.6) помітний виражений максимум на рівні приблизно 4,8–5,0 г/л, що спостерігається при концентрації натрій нітрату 5–6 г/л та натрій цитрату близько 2–3 г/л. Ізолінії мають форму розтягнутого еліпса з орієнтацією вздовж осі натрій нітрату, що вказує на переважний вплив цього фактора. У напрямку зменшення концентрації натрій нітрату модель демонструє поступове зниження рівня РЛ, тоді як вплив натрій цитрату має менш виражений характер у межах досліджуваного інтервалу.

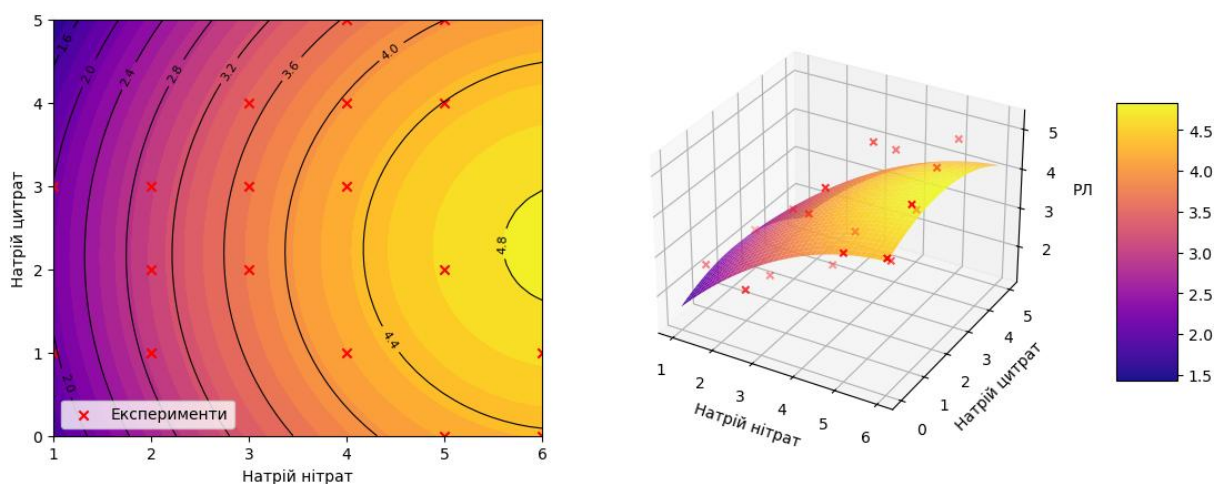


Рис. 5.6. Вплив концентрації натрій цитрату та натрій нітрату на вихід РЛ

Вплив концентрації натрій нітрату та гліцеролу на вихід ЕПС. На поверхні (рис. 5.7) спостерігається локальний максимум, де рівень ЕПС перевищує

5,0 г/л при концентрації гліцеролу 30–35 г/л та концентрації натрій нітрату 4–5 г/л. Ізолінії мають овальну форму з легким нахилом по діагоналі, що свідчить про взаємний вплив обох факторів. Підйом до максимуму відбувається поступово, без різких переходів, що характерно для стабільного синтезу при середніх концентраціях основних поживних компонентів. Зона максимуму добре узгоджується з експериментальними точками, які охоплюють ключовий діапазон значень.

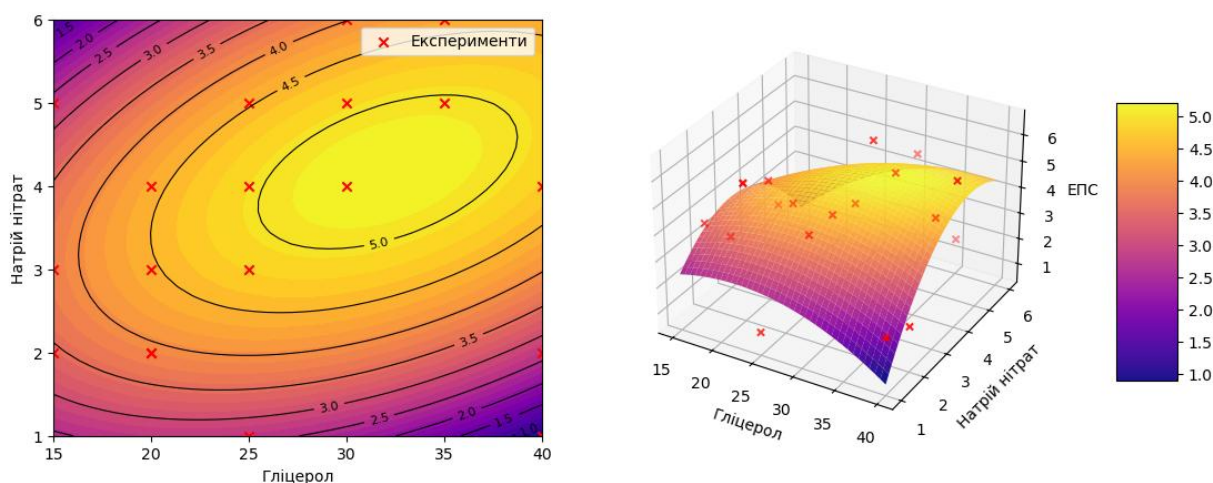


Рис. 5.7. Вплив концентрації натрій нітрату та гліцеролу на вихід ЕПС

Вплив концентрації натрій цитрату та гліцеролу на вихід ЕПС. На поверхні (рис. 5.8) помітний чіткий максимум, що перевищує 5,2 г/л, у зоні високої концентрації гліцеролу (понад 32 г/л) та низьких концентрацій натрій цитрату (0–1 г/л). Ізолінії мають асиметричну форму з вираженим зсувом максимального значення до нижнього правого кута, що вказує на не рівномірний вплив факторів. Концентрація натрій цитрату чинить інгібуючу дію при зростанні понад 3 г/л, тоді як концентрація гліцеролу є ключовим фактором посилення синтезу. Поверхня є гладкою, з домінуючим нахилом у напрямку підвищення концентрації гліцеролу.

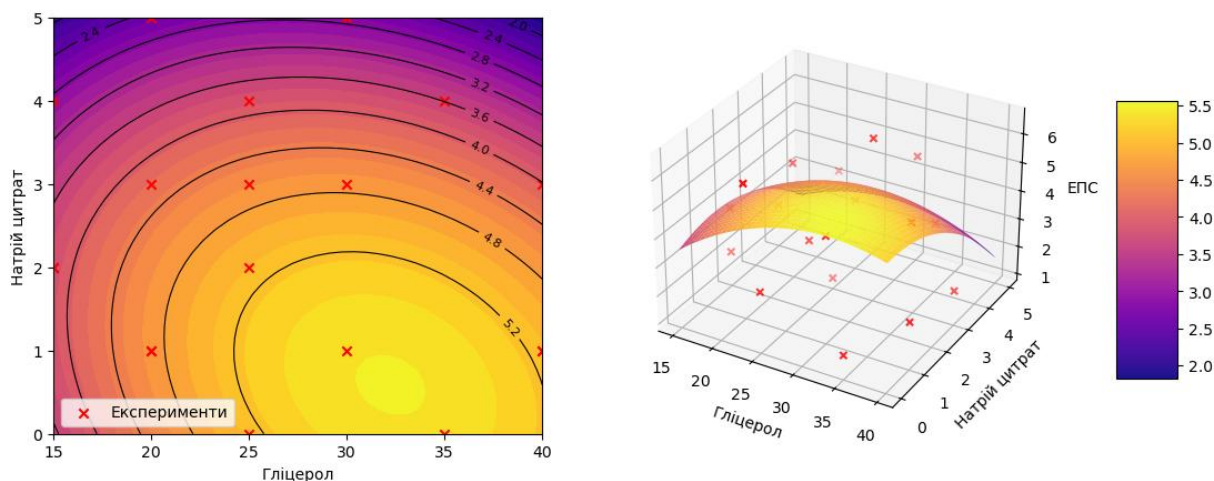


Рис. 5.8. Вплив концентрації натрій цитрату та гліцеролу на вихід ЕПС

Вплив концентрації натрій цитрату та натрій нітрату на вихід ЕПС. На поверхні (рис. 5.9) видно чіткий максимум, який досягає рівня понад 5,6 г/л за умов концентрації натрій нітрату 2–3 г/л та концентрації натрій цитрату близько 0–1 г/л. Ізолінії мають нахилену форму, з вираженою асиметрією, що вказує на зміщення області оптимуму до нижньої частини графіка. Поверхня демонструє вигнуту структуру, яка поступово вирівнюється в напрямку зростання обох факторів, підтверджуючи наявність зони ефективного балансу між іонними компонентами.

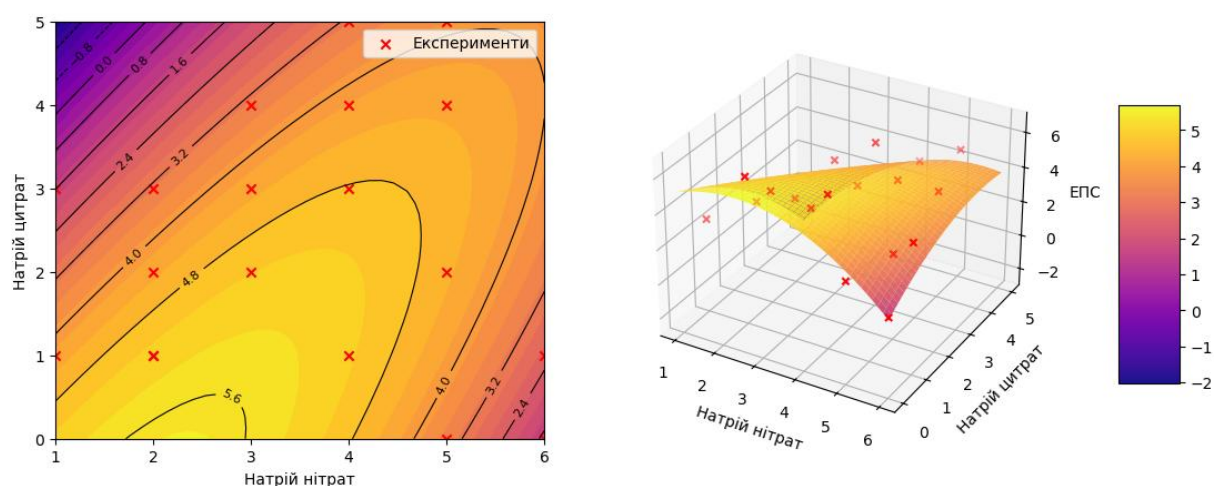


Рис. 5.9. Вплив концентрації натрій цитрату та натрій нітрату на вихід ЕПС

Побудовані поверхні візуалізували складну поведінку системи у відповідь на зміну умов середовища та виявили ділянки потенційного інтересу для подальшої оптимізації. Зокрема, стало можливим окреслити зони підвищеного біосинтезу, що

було використано на наступному етапі — пошуку оптимальних умов культивування. Такий підхід також дозволяє обґрунтувати вибір параметрів для майбутніх експериментів, спрямованих на оптимізацію середовища.

Оптимізація окремих відгуків та багатокритеріальна оптимізація. Після побудови ridge-регресійних моделей для кожного з трьох вихідних показників — АСБ, РЛ та ЕПС — було виконано процедуру оптимізації з метою знаходження комбінацій факторів, що забезпечують максимальний рівень кожного з відгуків. Для цього застосовано метод диференціальної еволюції, що дозволяє здійснювати глобальний пошук у неперервному просторі змінних.

Оптимальні умови для кожного окремого показника наведено в таблиці 5.1. Найвищий прогнозований рівень АСБ (2,69 г/л) досягається за умов максимальних концентрацій гліцеролу (40,0 г/л), натрій нітрату (6,0 г/л) та високого рівня натрій цитрату (4,27 г/л). Для РЛ оптимум спостерігається при дещо нижчій концентрації гліцеролу (35,7 г/л), максимальній концентрації натрій нітрату та середньому рівні натрій цитрату (2,13 г/л), що узгоджується з геометрією відповідної поверхні відгуку. У випадку ЕПС найкращі результати отримано при низьких концентраціях натрій цитрату (0,0 г/л), середніх концентраціях гліцеролу (~29,7 г/л) та натрій нітрату близько 2,5 г/л.

Таблиця 5.1

Оптимальні умови для кожного показника

Цільовий продукт	Гліцерол (г/л)	Натрій нітрат (г/л)	Натрій цитрат (г/л)	Прогнозований максимум (г/л)
АСБ	40	6	4,27	2,69
РЛ	35,7	6	2,13	5,25
ЕПС	29,7	2,53	0	5,77

Наступним етапом було проведено багатокритеріальну оптимізацію з використанням лінійної функції бажаності, що дозволяє поєднати всі три вихідні змінні в єдиний агрегований критерій. Для нормалізації використовувались мінімальні та максимальні значення концентрацій кожного показника. Вагові

коефіцієнти для АСБ, РЛ та ЕПС були прийняті рівними 1, що забезпечило баланс між усіма відповідями без надання пріоритету жодній з них.

Після обчислення агрегованої функції бажаності здійснено пошук її максимуму за допомогою методу L-BFGS-B. У результаті було отримано одну компромісну точку, в якій усі три концентрації цільових показників досягали найвищих значень одночасно: гліцерол – 36,4 г/л, натрій нітрат – 5,7 г/л, цитрат натрію – 3,0 г/л. У цій точці були спрогнозовані такі значення: АСБ – 2,46 г/л, РЛ – 5,14 г/л, ЕПС – 4,74 г/л. Результат оптимізації наведено в таблиці 5.2.

Таблиця 5.2

Результати багатокритеріальної оптимізації та покращення відносно середнього рівня

Цільовий продукт	Середній рівень, г/л	Оптимізований рівень, г/л	Абсолютне значення, г/л	Відносне значення, %
АСБ	2,01	2,46	0,45	22,3
РЛ	4,14	5,14	1,00	24,2
ЕПС	5,00	4,74	-0,26	-5,2

На основі наведених даних видно, що багатокритеріальна точка забезпечує істотне покращення для АСБ та РЛ, при незначному зниженні рівня ЕПС. Це свідчить про досягнення компромісного рішення, що має практичне значення для оптимізації умов у реальних біотехнологічних процесах, де важливо збалансувати всі цільові характеристики системи.

Оцінка прогнозної здатності моделі. Для оцінки якості побудованих моделей ridge-регресії було побудовано графіки співвідношення фактичних та прогнозованих значень для кожного з трьох вихідних показників. На рисунку 5.10 представлена діаграма з порівнянням прогнозованих та реальних значень для АСБ, РЛ та ЕПС. Кожна точка на графіку відображає одне експериментальне спостереження: по осі абсцис відкладаються реальні, виміряні значення відповідного показника, а по осі ординат — прогноз моделі для цієї ж точки. Сірі

пунктирні діагоналі відповідають ідеальному випадку, коли модель точно відтворює значення без похибки.

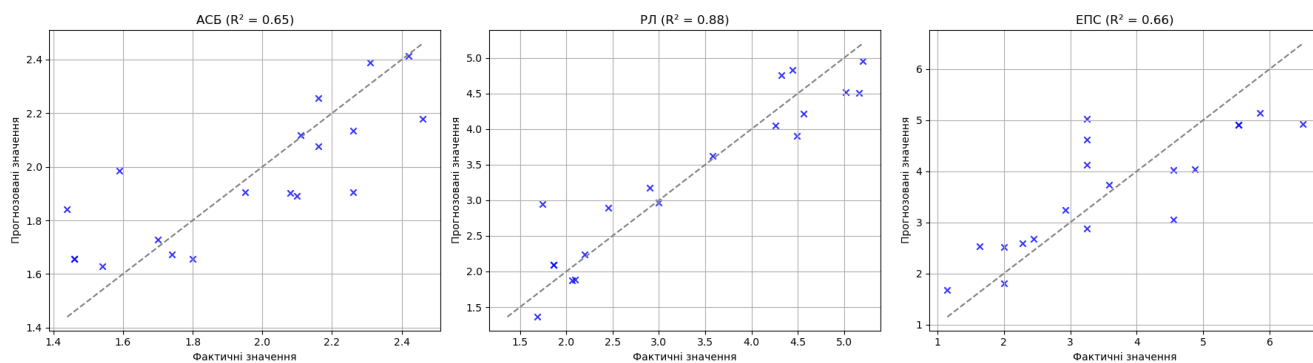


Рис. 5.10 Діаграми порівняння прогнозованих та фактичних значень

На графіку для РЛ (центральна діаграма) видно найкращу відповідність між прогнозом і експериментом: точки щільно згруповані вздовж діагоналі, а коефіцієнт детермінації становить $R^2 = 0,88$. Це свідчить про високу здатність моделі точно відтворювати змінність концентрації рамноліпідів у просторі факторів. Такий результат є особливо цінним з огляду на складну природу метаболізму поверхнево-активних речовин і варіативність середовища.

Для АСБ (ліва діаграма) коефіцієнт детермінації нижчий ($R^2 = 0,65$), проте модель відображає основні тенденції. На графіку спостерігається дещо більший розкид точок навколо діагоналі, що може бути зумовлено впливом додаткових, не врахованих у моделі факторів, які не були включені до дослідження.

У випадку ЕПС (права діаграма) рівень відповідності також є помірним ($R^2 = 0,66$). Прогнозовані значення досить близькі до фактичних, хоча розкиданість точок вказує на наявність локальних відхилень, що можуть бути пов'язані з чутливістю продукції полісахаридів до дрібних змін у середовищі або умовах культивування. Незважаючи на це, модель дозволяє відтворити загальний профіль зміни ЕПС і використовується як основа для подальшої оптимізації.

Візуальний аналіз підтверджує, що побудовані моделі є адекватними для кількісного опису залежності вихідних параметрів від концентрацій гліцеролу, натрій нітрату та натрій цитрату. Отримані значення коефіцієнтів детермінації свідчать про наявність збіжності між прогнозом і експериментом, особливо для РЛ,

що дозволяє використовувати модель як інструмент для інтерпретації даних та формування рекомендацій з оптимізації умов біосинтезу.

Статистична оцінка моделі за допомогою ANOVA. Для виявлення факторів і термінів, що мають статистично значущий вплив на вихідні показники, проведено розклад дисперсії (ANOVA) на основі параметрів моделей, побудованих методом найменших квадратів (OLS). Оцінку було виконано для трьох моделей — АСБ, РЛ та ЕПС — із включенням лінійних, квадратичних і попарних взаємодій. Результати наведено у таблицях 5.3–5.5.

У випадку моделі для АСБ (табл. 5.3) коефіцієнт детермінації склав $R^2 = 0,65$. Серед усіх термінів моделі статистично значущими (на рівні $p < 0,05$) виявилися лише два лінійних ефекти: натрій нітрату ($p = 0,056$, гранично значущий) і натрій цитрату ($p = 0,032$). Це свідчить про те, що зміна концентрації цитрату може мати лінійний позитивний вплив на накопичення біомаси, тоді як гліцерол у цій моделі статистично значущим не був.

Таблиця 5.3

Статистичні параметри моделі для АСБ

	coef	std err	t	P> t	[0.025	0.975]
Intercept	1,9918	0,172	11,563	0	1,602	2,381
Гліцерол	-0,0086	0,077	-0,111	0,914	-0,183	0,166
Натрій нітрат	0,2088	0,095	2,194	0,056	-0,006	0,424
Натрій цитрат	0,2127	0,084	2,532	0,032	0,023	0,403
Гліцерол:Натрій нітрат	-0,057	0,076	-0,746	0,475	-0,23	0,116
Гліцерол:Натрій цитрат	0,1267	0,097	1,305	0,224	-0,093	0,346
Натрій нітрат:Натрій цитрат	-0,0157	0,097	-0,161	0,876	-0,236	0,205
Гліцерол ** 2	0,0699	0,088	0,794	0,447	-0,129	0,269
Натрій нітрат ** 2	0,0795	0,087	0,916	0,384	-0,117	0,276
Натрій цитрат ** 2	-0,1655	0,094	-1,766	0,111	-0,377	0,046

Модель для РЛ (табл. 5.4) продемонструвала найкращу пояснювальну здатність — $R^2 = 0,89$. Два лінійні ефекти — гліцеролу ($p = 0,001$) та натрій нітрату ($p = 0,002$) — виявились високозначущими, що повністю узгоджується з геометрією

побудованих поверхонь відгуку. Квадратичний термін для гліцеролу також близький до рівня значущості ($p = 0,071$), вказуючи на наявність криволінійної залежності. Інші терміни, зокрема взаємодії, не мали статистичного підтвердження, що характерно при обмеженій вибірці.

Таблиця 5.4

Статистичні параметри моделі для РЛ

	coef	std err	t	P> t	[0.025	0.975]
Intercept	4,2267	0,375	11,271	0	3,378	5,075
Гліцерол	0,7621	0,168	4,533	0,001	0,382	1,142
Натрій нітрат	0,9242	0,207	4,461	0,002	0,456	1,393
Натрій цитрат	-0,0574	0,183	-0,314	0,761	-0,471	0,356
Гліцерол:Натрій нітрат	0,0138	0,166	0,083	0,936	-0,362	0,39
Гліцерол:Натрій цитрат	-0,0892	0,211	-0,422	0,683	-0,568	0,389
Натрій нітрат:Натрій цитрат	0,0656	0,212	0,309	0,764	-0,414	0,546
Гліцерол ** 2	-0,3916	0,192	-2,045	0,071	-0,825	0,042
Натрій нітрат ** 2	-0,2494	0,189	-1,32	0,219	-0,677	0,178
Натрій цитрат ** 2	-0,1655	0,094	-1,766	0,111	-0,377	0,046

Модель для ЕПС (табл. 5.5) мала помірно значення коефіцієнта детермінації ($R^2 = 0,67$). Значущим виявився лінійний ефект натрій цитрату ($p = 0,053$) — з негативним коефіцієнтом, що свідчить про пригнічення продукції ЕПС при надлишковому вмісті цитрату. Також варто відзначити статистичну значущість взаємодії між натрієм нітратом і цитратом натрію ($p = 0,031$), що вказує на комбінований ефект цих двох компонентів середовища. Інші терміни — квадратичні та решта взаємодій — не були статистично значущими у межах рівня $p < 0,05$.

Таблиця 5.5

Статистичні параметри моделі для ЕПС

	coef	std err	t	P> t	[0.025	0.975]
Intercept	5,2547	0,755	6,958	0	3,546	6,963
Гліцерол	0,3878	0,339	1,145	0,282	-0,378	1,154

Продовження табл. 5.5

Натрій нітрат	0,3629	0,417	0,87	0,407	-0,581	1,307
Натрій цитрат	-0,8218	0,368	-2,232	0,053	-1,655	0,011
Гліцерол:Натрій нітрат	0,5433	0,335	1,622	0,139	-0,214	1,301
Гліцерол:Натрій цитрат	-0,3096	0,426	-0,727	0,486	-1,273	0,654
Натрій нітрат:Натрій цитрат	1,0945	0,427	2,561	0,031	0,128	2,061
Гліцерол ** 2	-0,5017	0,386	-1,301	0,226	-1,374	0,371
Натрій нітрат ** 2	-0,802	0,38	-2,108	0,064	-1,663	0,058
Натрій цитрат ** 2	-0,4522	0,411	-1,101	0,299	-1,381	0,477

Таким чином, результати дисперсійного аналізу підтверджують, що основні лінійні фактори — гліцерол і натрій нітрат— відіграють провідну роль у регуляції біосинтезу рамноліпідів. У свою чергу, натрій цитрат має складніший вплив: він є значущим для АСБ та ЕПС, але виявляє інгібуючу дію в моделі полісахаридів. Незважаючи на обмежену кількість точок, статистичний аналіз дозволяє зробити висновки про структуру впливів і підтверджує якість моделей у контексті реальних біотехнологічних систем.

5.3. Моделювання та оптимізація синтезу ПГА штамом *R. ruber* UCM Ac-288

Другий експеримент стосувався моделювання біосинтезу ПГА штамом *R. ruber* UCM Ac-288. Аналогічно із попереднім дослідом, структура наявних даних не відповідала класичним принципам факторіального планування. Незалежними змінними були концентрації фруктози (г/л) та концентрації натрій нітрату (г/л). У якості цільових параметрів було визначено дві вихідні величини — біомасу (г/л) та продукцію ПГА (г/л).

Застосування традиційних методів моделювання було обмежене невеликою вибіркою, що дозволило застосувати підхід з використанням GPR. Цей метод є сучасним інструментом для побудови моделей на малих вибірках, особливо коли важливим є не лише отримання прогнозу, а й кількісна оцінка невизначеності кожного передбачення. Завдяки ймовірнісній природі, GPR дозволяє отримувати довірчі інтервали для кожної точки, а також визначати області, у яких модель є

менш впевненою — що особливо корисно для планування подальших експериментів та глибшого дослідження факторного простору.

Для обох цільових змінних було побудовано окремі GPR-моделі з використанням ядра Matern у поєднанні з WhiteKernel і масштабувальним коефіцієнтом. Перед побудовою моделі фактори були нормалізовані, що є загальноприйнятою процедурою при використанні GPR. Такий підхід дозволив досягти оптимального балансу між гладкістю поверхні та точністю опису наявних даних.

На наступних етапах дослідження модель була використана для побудови поверхонь відгуку, карти невизначеності (постеріорної дисперсії), карти бажаності, а також для проведення як окремої, так і багатокритеріальної оптимізації. Особливістю використання GPR стало те, що з її допомогою вдалося не лише описати вже наявні експериментальні дані, а й сформулювати нові гіпотези щодо потенційно продуктивних комбінацій концентрацій факторів.

Таким чином, застосування GPR у цьому експерименті забезпечило гнучкий та надійний підхід до моделювання ПГА, дозволяючи ефективно працювати з невеликою вибіркою, враховувати невизначеність моделі та орієнтуватись на майбутнє розширення експериментальної бази.

Експериментальні дані, фактори та цільові показники. У межах другого експериментального дослідження було проаналізовано 18 точок, отриманих у процесі культивування бактерії *R. ruber* UCM Ac-288. Експеримент мав на меті вивчити умови біосинтезу ПГА, що є одним із перспективних біополімерів. Проведений аналіз структури наявних вимірювань дозволив виявити залежності між факторами та вихідними параметрами.

До складу факторів входили два основні компоненти поживного середовища:

- **Концентрація фруктози (г/л)** — основне джерело вуглецю;
- **Концентрація натрій нітрату (г/л)** — джерело неорганічного азоту.

Фруктоза варіювалась у чотирьох рівнях (30, 35, 40, 50 г/л), тоді як концентрація натрій нітрату — у трьох рівнях (0,1, 0,3, 0,5 г/л). Комбінація цих рівнів формувала набір експериментальних умов із повтореннями, що

забезпечувало варіативність вихідних результатів і дозволяло оцінити внутрішню стабільність моделі.

У якості цільових показників використовувались два кількісні параметри:

- **Біомаса (г/л)** — загальний рівень накопичення клітинної маси, що слугує індикатором росту культури;
- **ПГА (г/л)** — вміст полігідроксиалканоатів, що є ключовим показником ефективності біосинтезу цільового продукту.

Обидва відгуки були безперервними числовими величинами, з помітною варіативністю залежно від рівнів концентрацій вхідних змінних. Зокрема, значення біомаси коливались у межах 1,7–4,5 г/л, тоді як рівень ПГА варіював від 0,11 до 1,49 г/л. Дослідження охоплювало як низькопродуктивні умови, так і такі, що забезпечують ефективну продукцію полімеру, що в подальшому дозволило моделі навчитися диференціювати ефективні та неефективні зони у факторному просторі.

Таким чином, отримана експериментальна база забезпечила необхідний рівень вхідної інформації для побудови моделі на основі GPR, навіть попри обмежену кількість точок та відсутність класичного дизайну експерименту. Завдяки застосованому методу стало можливим не лише відтворити наявні залежності, а й передбачити поведінку системи поза межами наявного набору вимірювань.

Побудова GPR-моделей та оцінка якості. Для моделювання залежностей між концентраціями фруктози та натрій нітрату й відповідними виходами — біомасою та ПГА — було використано метод GPR. Підхід реалізовано з використанням бібліотеки scikit-learn, зокрема модулю GaussianProcessRegressor. Для кожної з цільових змінних було створено окрему модель, з оптимально підібраними параметрами ядра.

В основі моделі лежить складене ядро — добуток ConstantKernel та ядра Matern ($\nu=2.5$) із додаванням WhiteKernel, що дозволяє врахувати як глобальні тенденції, так і локальні зміни у даних та врахувати випадкові коливання прогнозів.

Дані було попередньо нормалізовано через StandardScaler, оскільки моделі GPR чутливі до масштабу змінних. Це також дозволило уникнути зміщення в оцінці довжини хвиль у функції ядра.

Оцінка якості моделей здійснювалась за допомогою перехресної перевірки типу LOOCV, яка є найбільш доречною в умовах обмеженого обсягу вибірки. Кожна точка почергово виключалась із навчального набору, після чого модель будувалась на решті спостережень, і здійснювався прогноз на виключеній точці. Таким чином, забезпечувалась об'єктивна оцінка узагальнюючої здатності моделі.

Отримані результати LOOCV свідчать про високу точність побудованих моделей. Для моделі, що описує біомасу, коефіцієнт детермінації (R^2) склав 0,934, а корінь середньоквадратичної похибки (RMSE) — 0,221 г/л. Для моделі ПГА ці показники становили 0,993 та 0,037 г/л відповідно.

Зважаючи на високе значення коефіцієнта детермінації для обох моделей, а також низький рівень середньої похибки, можна стверджувати, що побудовані GPR-моделі добре відтворюють тенденції, наявні в експериментальних даних, і є придатними для подальшого аналізу. Зокрема, моделі дозволяють виконувати побудову поверхонь відгуку з відображенням невизначеності, аналіз факторного впливу, а також знаходження оптимальних умов у просторі факторів.

Аналіз невизначеності прогнозу. GPR дозволяє генерувати не лише точкові прогнози, але й відповідні довірчі інтервали, що кількісно відображають ступінь впевненості моделі в певній області простору факторів. Цей аспект особливо важливий при роботі з невеликими наборами даних або з нерівномірним розподілом експериментальних точок, як у поточному дослідженні.

У рамках цього підpunkту для кожного з вихідних показників — біомаси та ПГА — було побудовано карти невизначеності на основі стандартного відхилення передбачених значень (posterior standard deviation). Візуалізація охоплює двовимірну область факторів (концентрації фруктози та натрій нітрату) з інтенсивністю кольору, що відповідає величині σ (стандартного відхилення) у кожній точці.

На графіку для біомаси (рис. 5.11) спостерігається чітке зростання невизначеності на краях області, зокрема при дуже високих концентраціях фруктози (понад 45 г/л) або низькій концентрації натрій нітрату ($<0,2$ г/л). Це пояснюється відсутністю експериментальних точок у цих зонах, що призводить до

меншої інформативності навчальних даних і, як наслідок, більшої варіативності передбачень. У центральній частині простору, де зосереджено основну масу спостережень, значення σ знижуються до мінімальних, що свідчить про високу впевненість моделі в цій області.

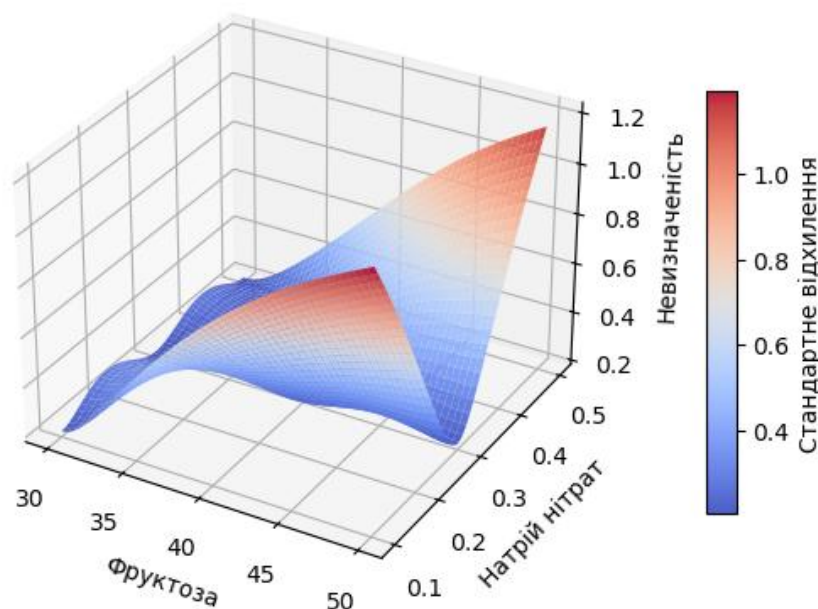


Рис. 5.11. Площина невизначеності прогнозу моделі для біомаси

Аналогічна картина спостерігається на графіку для ПГА (рис. 5.12), де мінімальні значення стандартного відхилення припадають на область концентрації фруктози 30–35 г/л та натрій нітрату у межах 0,3–0,5 г/л. Варто зауважити, що зони високої невизначеності частково перекриваються з тими, де модель прогнозує високі значення відгуку, що є додатковим обґрунтуванням для проведення подальших експериментів саме у цих напрямках.

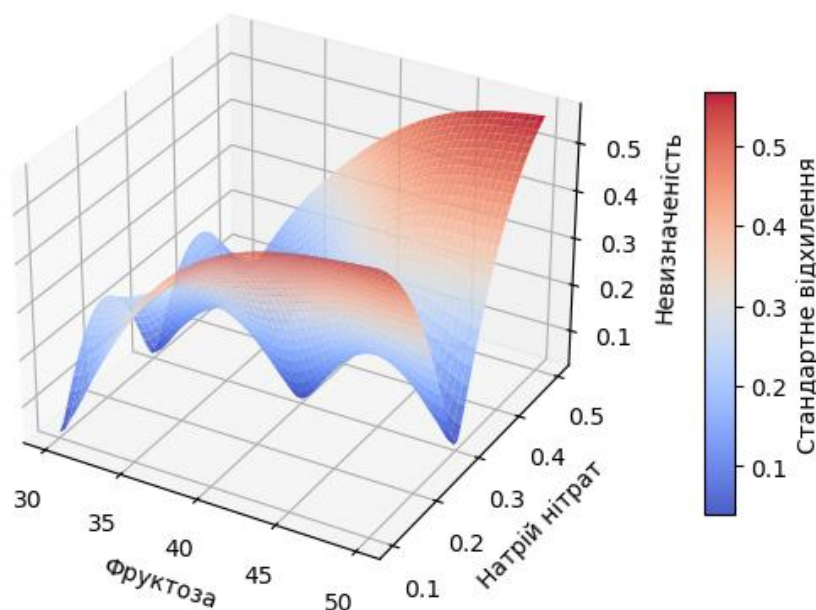


Рис. 5.12. Площина невизначеності прогнозу моделі для ПГА

Для більш наочного уявлення також були побудовані двовимірні довірчі області (рис. 5.13), які візуалізують ширину 95% довірчих інтервалів у кожній точці простору факторів. Такі візуалізації не лише дозволяють оцінити надійність моделі, але й слугують базисом для подальших кроків у плануванні експериментів.

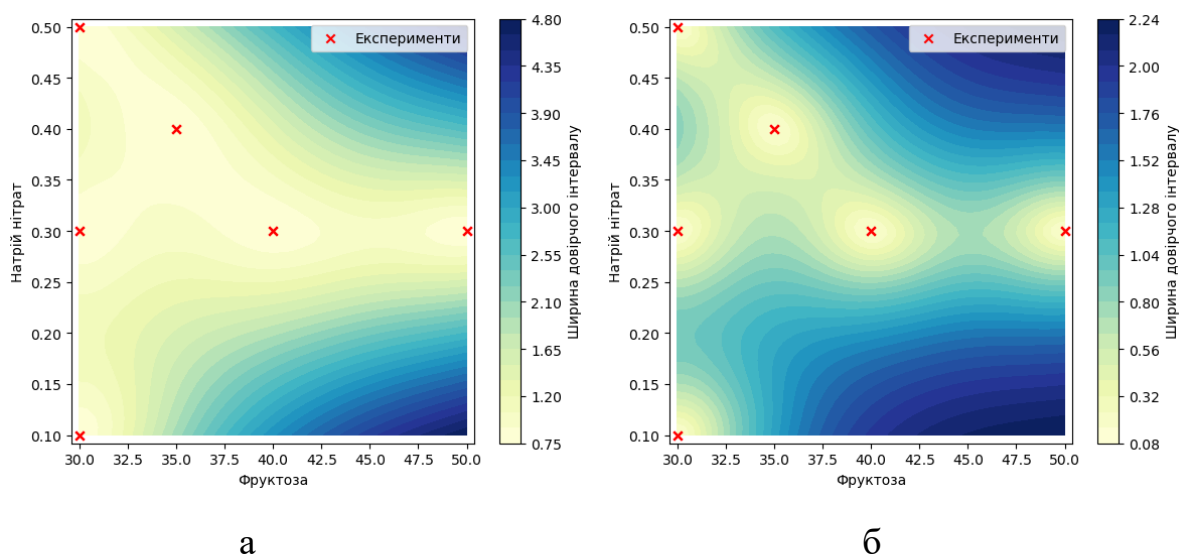


Рис. 5.13. Двовимірні довірчі області з шириною 95% довірчих інтервалів для моделі: а – біомаси; б – ПГА.

Крім візуального аналізу поверхонь невизначеності, було також перевірено узгодженість очікуваної поведінки σ із фактичним розташуванням експериментальних точок. Це підтвердило, що модель логічно підвищує невизначеність у зонах, віддалених від центру наявних спостережень. Таким чином, побудова та аналіз карт σ дозволяють не лише краще зрозуміти надійність прогнозів, але й потенційно планувати майбутні експерименти, спрямовані на зменшення прогалин у даних.

Побудова графіків та графічний аналіз. Для глибшого розуміння поведінки GPR-моделі та її внутрішніх закономірностей було реалізовано декілька типів графічного аналізу. Першим типом стали графіки часткової залежності (PDP), які дозволяють візуально оцінити, як кожен фактор окремо впливає на вихідну змінну за умов фіксування інших факторів. У даному випадку PDP-графіки було побудовано для обох цільових показників — біомаси та ПГА (рис. 5.14). Вони дозволили виявити, що збільшення концентрації натрій нітрату у межах 0,1–0,35 г/л позитивно впливає на синтез ПГА, проте за межами цього діапазону ефект стабілізується. У випадку біомаси найбільш чіткий ефект демонструє концентрація фруктози: в межах 30–40 г/л біомаса знаходиться на високому рівні, а подальше підвищення не дає значного приросту.

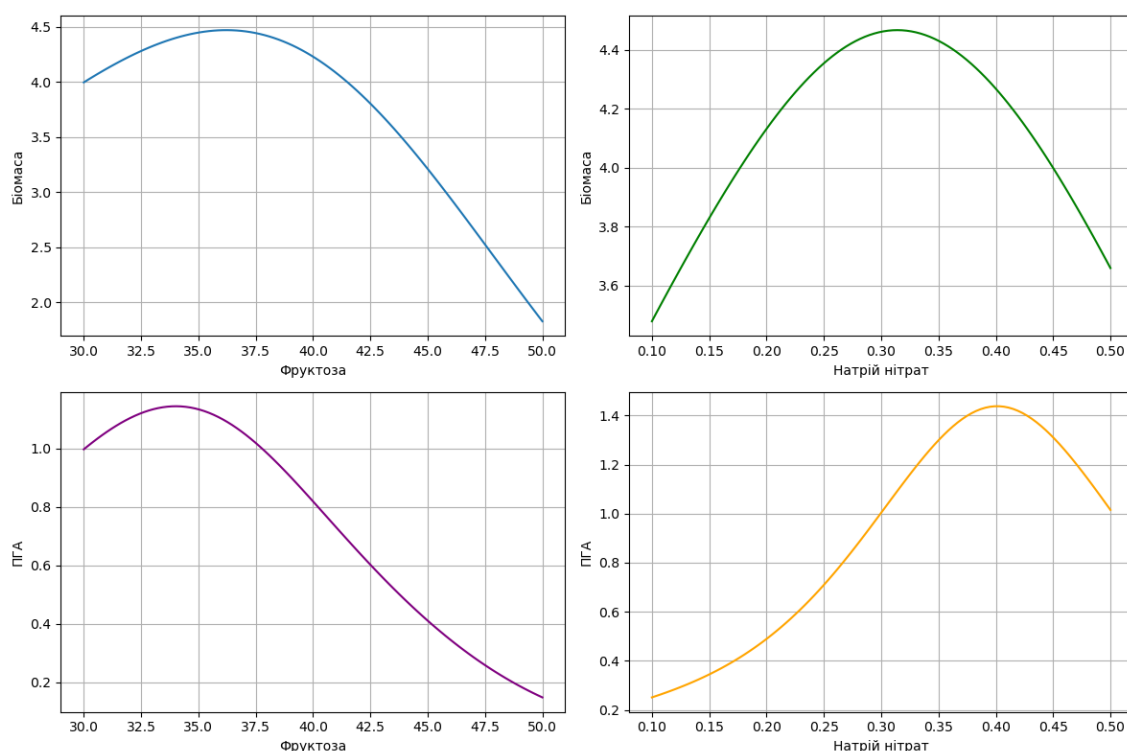


Рис. 5.14. Графіки часткової залежності факторів від біомаси та ПГА

Ці висновки були отримані шляхом побудови графіків часткових залежностей кожного фактора при усередненні впливу інших. Такий підхід реалізовано програмно через проходження всієї вибірки з варіюванням лише одного фактору при фіксації інших на їх середніх значеннях.

Наступним кроком було створення карти об'єднаної функції бажаності для двох виходів (рис. 5.15). Цей підхід базувався на нормалізації кожної з вихідних змінних у межах $[0, 1]$ та обчисленні середнього значення бажаності для кожної комбінації факторів. Отримана карта відображає зони компромісного оптимуму, де значення і біомаси, і ПГА знаходяться на високому рівні. Особливо виразною виявилась область при концентрації фруктози 35–40 г/л та концентрації натрій нітрату 0,3–0,4 г/л, яка продемонструвала збалансовані високі значення обох показників. Така інформація є корисною при розробці умов ферментації, де необхідно досягти водночас двох взаємопов'язаних цілей.

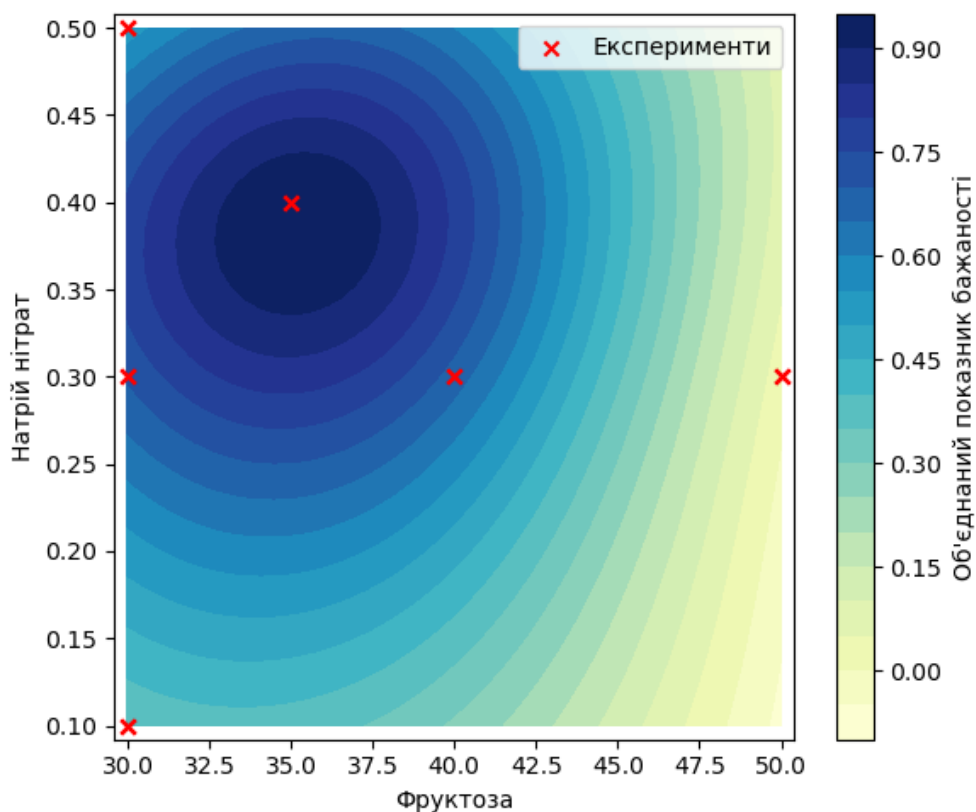


Рис. 5.15. Об'єднана функція бажаності для біомаси та ПГА

Завершальним типом графіка, що був реалізований у цьому дослідженні, є оптимізаційна карта очікуваного покращення. Цей інструмент, який широко використовується з метою оптимізації, дозволяючи виявляти зони у просторі факторів, де очікується максимальне покращення вихідного параметра порівняно з найкращим з уже досягнутих значень. Побудова EI-карт для ПГА та біомаси (рис. 5.16) окремо показала, що найбільше очікуване покращення припадає на області, де модель має водночас високу очікувану відповідь і низьку невизначеність. Це дозволяє обґрунтувати планування майбутніх експериментів, оскільки зони високого EI позначають найбільш перспективні умови для перевірки на практиці.

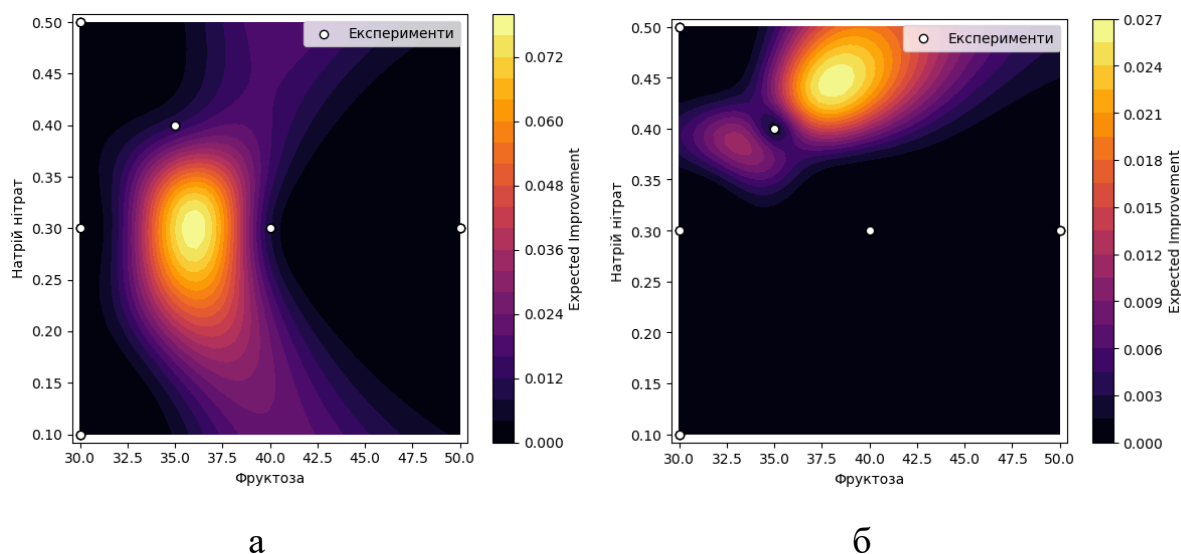


Рис. 5.16. Оптимізаційна карта очікуваного покращення для моделі:

а – біомаси; б – ПГА

На рисунку 5.17 зображено об'єднану карту EI, яка була побудована на основі GPR-моделей для двох цільових показників — біомаси та ПГА. На відміну від окремих EI-карт, що враховують лише один вихід, об'єднану функцію бажаності побудовано через агрегування двох незалежних EI-функцій. Це дозволило врахувати компроміс між двома важливими цілями одночасно, ідентифікувавши області, де потенційно можливе поліпшення обох відгуків.

На графіку видно, що максимальні значення об'єданої EI зосереджені у двох локальних зонах: перша — при концентрації фруктози близько 38–40 г/л та концентрації натрій нітрату $\sim 0,45$ г/л; друга — трохи нижче, в області з концентраціями натрій нітрату $\sim 0,30$ г/л і фруктози 36–37 г/л. Обидві ці області відзначаються високою очікуваною вигодою з точки зору подальших досліджень. Білими маркерами на графіку позначені наявні експериментальні точки — можна помітити, що зони з найвищими EI знаходяться в безпосередній близькості до, але не збігаються з, уже вивченими умовами. Це означає, що модель вказує на потенціал для поліпшення саме на межі або трохи поза межами відомих даних.

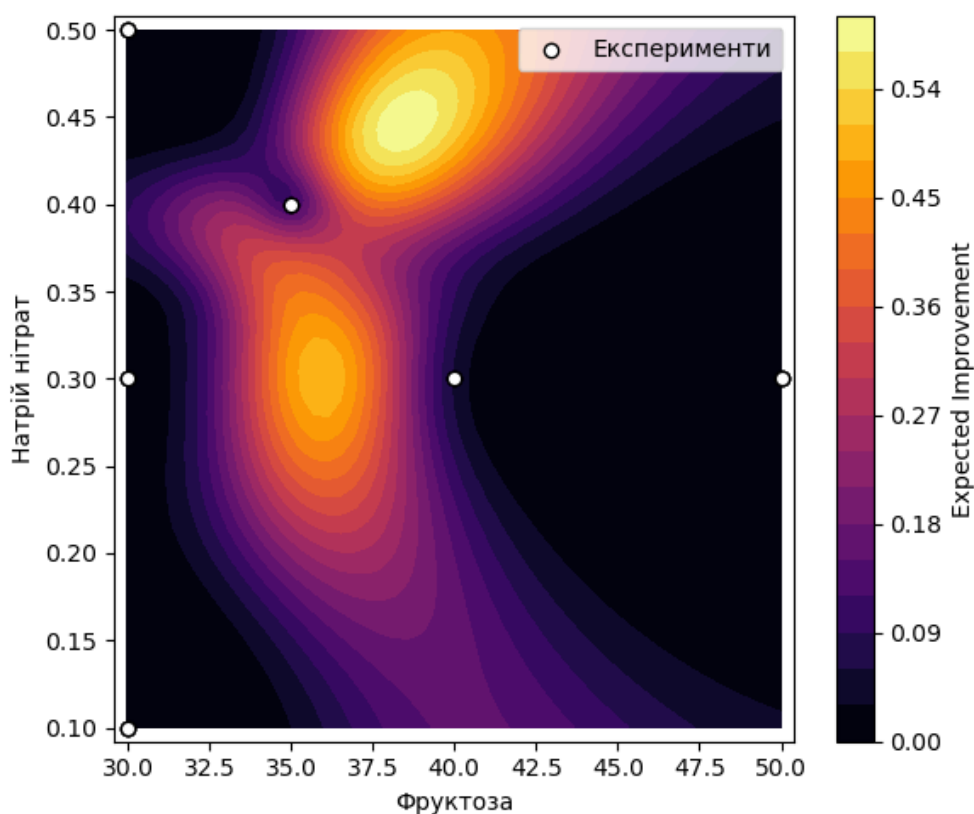


Рис. 5.17. Об'єднана оптимізаційна карта для моделей біомаси та ПГА

Перевага такого підходу полягає у здатності ЕІ-функції поєднувати інформацію як про кращий прогноз, так і про зменшення невизначеності системи. Високі значення ЕІ може виникати або там, де модель очікує високі виходи, або там, де невизначеність досить висока, щоб допустити несподівано високий результат. Завдяки цьому об'єднана карта дозволяє обґрунтовано планувати подальші експерименти не лише в «зонах максимуму», але і в області, де ще не вистачає інформації, але прогноз виглядає перспективним.

Таким чином, аналіз такого набору графіків значно розширює можливості інтерпретації поведінки моделі та дає змогу наочно і ґрунтовно оцінити як вплив окремих факторів, так і потенціал подальшої оптимізації.

Багатокритеріальна та однокритеріальна оптимізація. Після побудови GPR-моделей для біомаси та ПГА було виконано оптимізацію умов культивування у двох постановках задачі: окремо для кожного з відгуків (однокритеріальна оптимізація) та з одночасним врахуванням обох (багатокритеріальна оптимізація).

У першому випадку цільова функція формувалась як негативне значення відповідного прогнозу, що дозволяло застосувати стандартні методи чисельної мінімізації (`scipy.optimize.minimize`). Оптимізація проводилась у кодованому просторі факторів, після чого координати декодувались у реальні концентрації. Концентрації, що забезпечили максимальну біомасу, склали 36,22 г/л фруктози та 0,31 г/л натрій нітрату. За цих концентрацій прогнозована біомаса досягала 4,47 г/л, при цьому концентрація ПГА становила 1,08 г/л. Натомість при оптимізації лише ПГА модель вказала на інші концентрації: 35,02 г/л фруктози та 0,4 г/л натрій нітрату. У цій точці прогнозований вихід ПГА склав 1,45 г/л, тоді як біомаса становила 4,26 г/л.

Для пошуку компромісу між двома цілями було реалізовано багатоцільову оптимізацію, де кожен відгук нормалізувався у межах $[0, 1]$, і з них обчислювалась загальна функція бажаності. Рівні значущості обох параметрів вважались рівними. Максимум об'єднаної функції бажаності (0,948) було досягнуто при концентрацій фруктози 35,22 г/л та натрій нітрату 0,38 г/л. За цих умов модель прогнозує біомасу 4,32 г/л та вихід ПГА 1,43 г/л — що є близькими до оптимумів, знайдених при застосуванні однокритеріальної оптимізації.

Отримані результати демонструють, що система добре піддається оптимізації: кожен з цільових параметрів має окрему область максимуму, проте ці області частково перетинаються. Це дозволяє досягти компромісних умов без значного зниження значень відгуків. Багатокритеріальна оптимізація виявилася ефективним інструментом для узгодження двох цільових відгуків і дозволила обґрунтовано сформулювати рекомендації для подальших експериментальних досліджень.

Таким чином, реалізація оптимізації на основі GPR-моделей дозволила виявити як індивідуальні максимуми, так і компромісні області в просторі факторів. Завдяки поєднанню точності прогнозу та кількісної оцінки невизначеності, отримані результати можуть служити не лише теоретичною базою для інтерпретації системи, але й інструментом практичного прийняття рішень у біопроцесах.

5.4. Порівняльний аналіз методів та рекомендації щодо вибору підходу

У цьому розділі було розглянуто два незалежні приклади математичного моделювання процесів мікробного синтезу з використанням різних підходів. У першому випадку аналізувалися експериментальні дані з біосинтезу біосурфактантів штамом *Pseudomonas* sp. PS-17, де було три вихідні величини (АСБ, РЛ та ЕПС), а вхідними факторами слугували концентрації гліцеролу, натрій нітрату та натрій цитрату. Для обробки цих даних було обрано ridge-регресію як метод, що дозволяє зменшити ризик перенавчання за наявності мультиколінеарних змінних та зберегти інтерпретованість моделі.

У другому випадку розглядалися дані щодо біосинтезу ПГА штамом *R. ruber* UCM Ac-288. Тут аналіз охоплював дві вихідні величини — біомасу та вміст ПГА — при зміні концентрацій фруктози та натрій нітрату. Завдяки відносно обмеженій кількості спостережень (18 точок), але високій якості вимірювань, для цього завдання було обрано GPR — ймовірнісну нелінійну модель, яка дає змогу не лише точно апроксимувати експериментальні дані, а й кількісно оцінити рівень невизначеності прогнозу.

Порівняльний аналіз показав, що ridge-регресія, незважаючи на свою простоту, забезпечує доволі надійний результат при побудові поверхонь відгуку другого порядку. Цей метод дозволяє ефективно моделювати взаємодії між факторами, зберігає аналітичну форму моделей та добре інтегрується з класичними підходами до оптимізації. Водночас точність цієї моделі виявилася дещо обмеженою для деяких відгуків — зокрема, коефіцієнт детермінації R^2 для моделі АСБ становив лише 0,65. Крім того, хоч метод і є стійким до мультиколінеарності факторів, його здатність враховувати складніші ефекти взаємодії (наприклад, сигмоїдальні та порогові ефекти) залишається обмеженою.

Зі свого боку, GPR-моделювання для процесу синтезу ПГА забезпечило надзвичайно високі показники точності. Зокрема, за результатами LOOCV, коефіцієнт детермінації R^2 для моделі біомаси становив 0,934, а для ПГА — 0,993. Крім точного прогнозу, GPR дозволяє отримати картину невизначеності (σ) для кожної з точок простору факторів, що відкриває можливості для побудови функцій

очікуваного покращення і обґрунтованого планування подальших експериментів. Така гнучкість особливо цінна в умовах обмежених даних, коли критичним є кожне нове спостереження.

У деяких випадках комбінування обох методів — наприклад, використання GPR для точного прогнозу та ridge-регресії для структурного аналізу — може забезпечити найбільш збалансований результат. Такий підхід особливо ефективний при розробці нових біотехнологічних процесів, де важливо не лише прогнозувати вихід продукту, а й зрозуміти, які фактори визначають поведінку системи.

Висновки до розділу 5

У цьому розділі було представлено два приклади використання сучасних біоінженерних підходів до оптимізації процесів мікробного синтезу з використанням лабораторних експериментальних даних.

У першому прикладі було побудовано ridge-регресійні моделі для опису синтезу біосурфактантів штамом *Pseudomonas* sp. PS-17 на основі трьох вихідних параметрів — АСБ, РЛ та ЕПС. Ці моделі дозволили сформулювати поверхні відгуку, провести оптимізацію кожного з показників окремо, а також знайти компромісне багатокритеріальне рішення. Результати показали наявність зон з чітко вираженими максимумами, що підтверджує ефективність вибраної моделі для задач аналізу взаємодій між факторами.

Другий приклад базувався на прогнозуванні продуктивності виходу біомаси та ПГА штамом *R. ruber* UCM Ac-288. У цьому випадку застосовувалась GPR, яка показала високу точність апроксимації (R^2 LOOCV: 0,934 для біомаси та 0,993 для ПГА) та дала змогу побудувати карти невизначеності прогнозу, функції бажаності та карти очікуваного покращення. Особливо цінною є здатність GPR-моделі виявляти зони простору факторів, де можливо досягти одночасного покращення обох цільових показників — що було успішно реалізовано в рамках багатоцільової оптимізації.

Проведене порівняння підходів виявило їхню взаємодоповнюваність: ridge-регресія є зручною для інтерпретованого аналізу, побудови поверхонь та

проведення ANOVA, тоді як GPR більш ефективна у випадках з малою вибіркою та складною, нелінійною поведінкою системи. Таким чином, залежно від кількості даних, завдань дослідження та вимог до точності, обидва методи можуть бути корисними інструментами для моделювання процесів біосинтезу.

Результати опубліковані в:

- Январьов Є. Б., Гавриляк В. В. Вибір математичних моделей для оптимізації отримання біосурфактантів у біотехнології // Chemical and biopharmaceutical technologies: collection of scientific papers. – 2023. – Р. 147-148.

РОЗДІЛ 6. РОЗРОБЛЕННЯ ОСНОВ ТЕХНОЛОГІЇ ОДЕРЖАННЯ БІОСУРФАКТАНТІВ

6.1. Принципова технологічна схема процесу отримання продуктів *Pseudomonas* sp. PS-17

На основі дослідження особливостей культивування штаму *Pseudomonas* sp. PS-17 на середовищі з гліцеролом як джерелом вуглецю було створено концептуальну технологічну схему для промислового одержання біосурфактантів. У рамках цієї розробки визначено три варіанти цільової продукції (рис. 6.1): супернатант культуральної рідини (1), біокомплекс на основі рамноліпідів (2) та рамноліпіди (3).

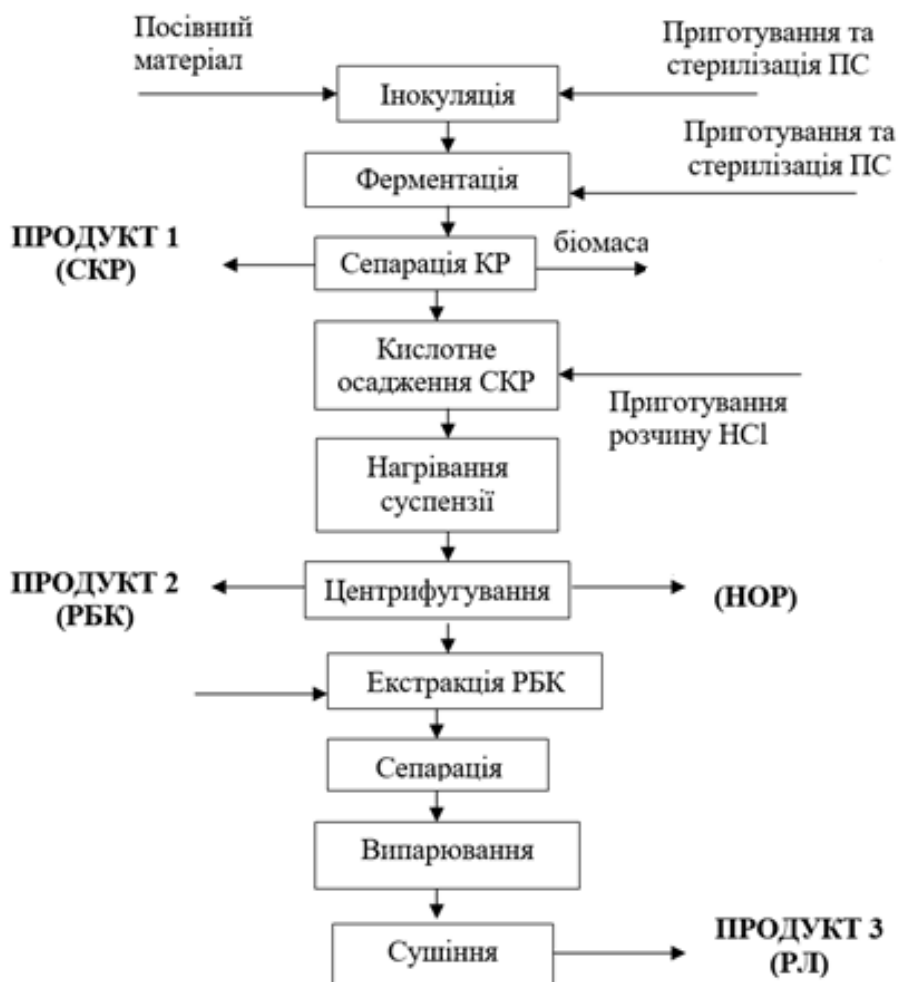


Рис. 6.1. Принципова блок-схема процесу отримання ПАР

Для культивування штаму-продуцента застосовують ферментер, оснащений вихровою системою аерації, яку можна реалізувати на базі стандартного біореактора з мішалкою нижнього приводу. Використання такого обладнання виправдане високою схильністю культуральної рідини до інтенсивного піноутворення під час біопроцесу. Вихрова система дозволяє підвищити коефіцієнт масопереносу кисню порівняно з іншими типами аерації, що сприяє зниженню потреби в кисні та, відповідно, зменшенню сумарних енерговитрат.

Процес отримання цільових продуктів *Pseudomonas* sp. PS-17 передбачає виконання основних і допоміжних операцій. До допоміжних належать заходи з санітарної підготовки виробництва, що включають обробку приміщень, устаткування, приготування мийних і дезінфекційних розчинів, а також підготовку стерильного технологічного повітря та поживного середовища. Основний технологічний процес охоплює лабораторний та промисловий етапи формування посівного матеріалу, проведення товарної ферментації й стадії вилучення кінцевої продукції [176].

6.2. Опис технологічного процесу одержання продуктів *Pseudomonas* sp. PS-17

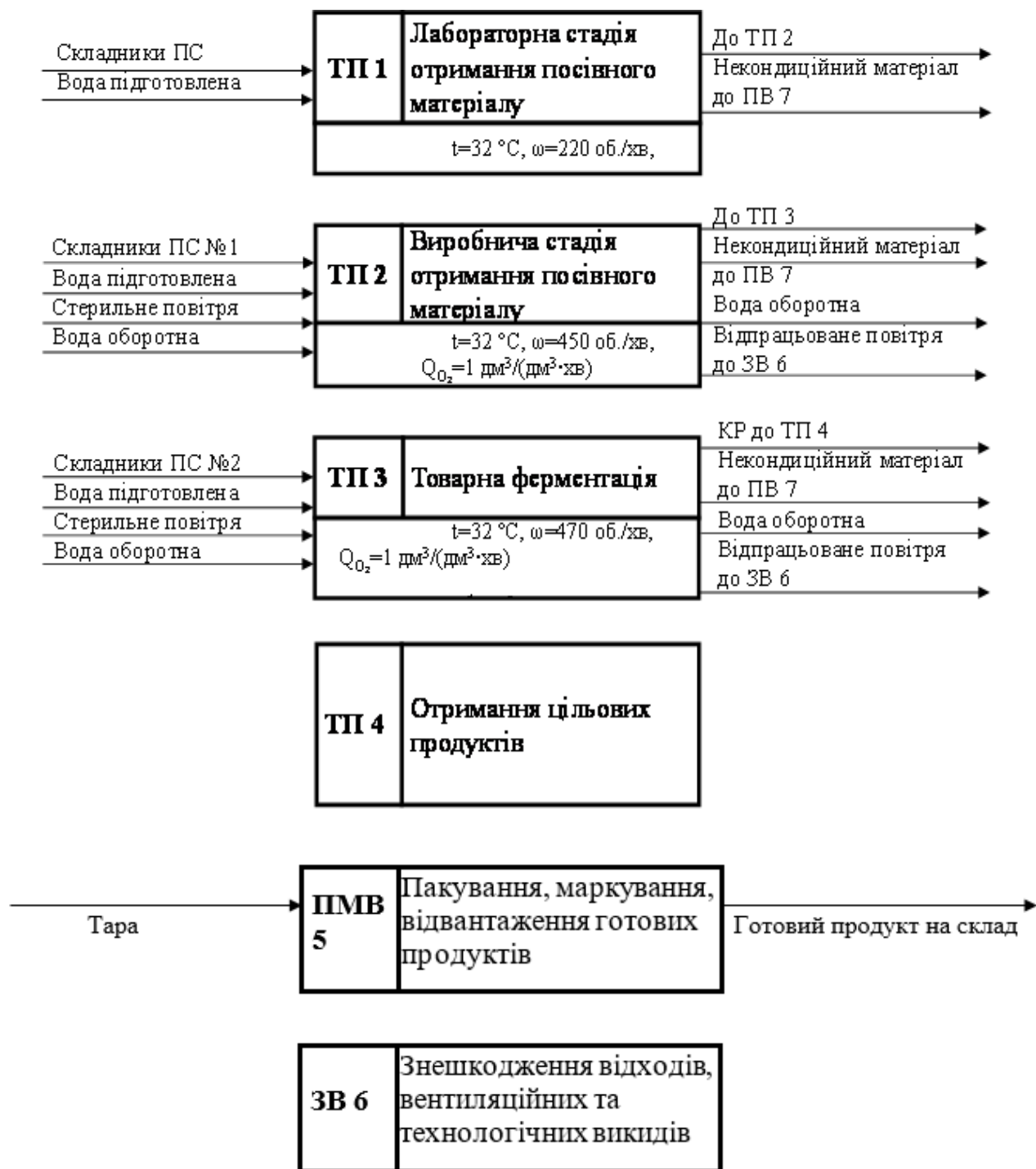


Рис. 6.2. Технологічна схема одержання поверхнево-активних продуктів штаму *Pseudomonas* sp. PS-17



Рис. 6.3. Технологічна схема одержання поверхнево-активних продуктів штаму *Pseudomonas* sp. PS-17 (цільові продукти)

ТП 1. Лабораторний етап культивування посівного матеріалу

ТП 1.1. Зберігання музейної культури

Культуру *Pseudomonas* sp. PS-17 зберігають у пробірках на агаризованому поживному середовищі під шаром мінеральної олії. Для збереження життєздатності та активності штаму його раз на рік пересівають на свіже середовище. Усі маніпуляції з музейною культурою виконуються з дотриманням суворих правил асептики.

ТП 1.2. Приготування поживного середовища для лабораторного етапу культивування посівного матеріалу

Для вирощування штаму *Pseudomonas* sp. PS-17 у колбах на ротаційній качалці використовують поживне середовище №1 наступного складу (г/дм³): гліцерин – 30; натрій цитрат – 4,0; NaNO₃ – 4,0; K₂HPO₄×3H₂O – 2,0; KH₂PO₄ – 1,2; MgSO₄×7H₂O – 0,5 [177].

Для приготування поживного середовища у колбу наливають потрібний об'єм водопровідної води, додають солі та перемішують до їх повного розчинення, після чого вносять необхідну кількість гліцерину. Готове середовище розподіляють по колбах і стерилізують в автоклаві при температурі 132 °C протягом 20 хвилин.

ТП 1.3. Вирощування культури в колбах

Для отримання рідкого посівного матеріалу першої генерації у колби об'ємом 1 дм³ наливають по 200 см³ підготовленого поживного середовища (див. ТП 1.2).

У пробірку з робочою культурою *Pseudomonas* sp. PS-17 додають 5 см³ стерильного фізіологічного розчину, ретельно суспендують клітини (змивають біомасу), після чого піпеткою відбирають отриману бактеріальну суспензію та вносять її в колбу з рідким поживним середовищем для підготовки посівного матеріалу. Колби розміщують на лабораторну качалку з частотою 220 об./хв і культивують протягом 24 годин при температурі 32±2 °C. Готовий посівний матеріал перевіряють мікроскопічно для виключення наявності сторонньої мікрофлори.

ТП 1.4. Вирощування посівного матеріалу в лабораторному ферментері

Для отримання рідкого посівного матеріалу другої генерації у колби об'ємом 1 дм³ наливають по 200 см³ підготовленого поживного середовища (див. ТП 1.2).

Культуральну рідину, отриману на попередньому етапі (ТП 1), переносять із посівного матеріалу в колби, заповнені стерильним поживним середовищем. Колби розміщують на лабораторну качалку з частотою 220 об./хв і культивують протягом 24 годин при температурі 32±2 °C. Якість отриманого посівного матеріалу перевіряють на наявність сторонньої мікрофлори шляхом висівання на чашки Петрі з агаризованим середовищем та мікроскопічного аналізу [176]. Концентрація клітин становить не менше 2×10⁸ КУО/см³. Цей посівний матеріал з колб використовують для засіву виробничого інокулятора (Р-1).

ТП 2. Виробнича стадія культивування посівного матеріалу

ТП 2.1. Підготовка та стерилізація поживного середовища для виробничої стадії культивування інокуляту

Застосовують виробничий інокулятор (Р-1) місткістю 50 дм³, оснащений термостатичною оболонкою та вихровою аераційною системою.

Склад поживного середовища для культивування *Pseudomonas* sp. PS-17 в інокуляторі відповідає середовищу, яке використовують у колбах на качалці. У простерилізований та охолоджений інокулятор (Р-1) заливають 25 дм³ водопровідної води (з урахуванням конденсату та 5 % посівного матеріалу з колб, загальний об'єм становить 30 дм³). При працюючій мішалці додають солі до повного розчинення, вносять гліцерин, регулюють рН до 7,0 за допомогою 10% розчину НСІ і здійснюють стерилізацію гострою парою при 120 °С протягом 30 хвилин [177].

ТП 2.2. Культивування посівного матеріалу в інокуляторі Р-1

Посівний матеріал із колб під асептичними умовами вносять у реактор (Р-1), заповнений стерильним поживним середовищем. Культивування здійснюють при швидкості обертання мішалки 450 об./хв та подачі повітря 30 дм³/хв. Режим перемішування та аерації коригують відповідно до показників рівня розчиненого кисню (рО₂). Кожні 4 години ферментації проводять вимірювання оптичної щільності культуральної рідини. Загальна тривалість процесу становить 36 годин.

Отриманий посівний матеріал (з титром клітин не менше 2×10^8 КУО/см³) перевіряють на відсутність сторонньої мікрофлори, після чого використовують для засіву ферментера (Р-2). Об'єм посівного матеріалу, що подається з інокулятора, становить 30 дм³ [177].

ТП 3. Промислове культивування (товарна ферментація)

ТП 3.1. Приготування поживного середовища для промислового етапу ферментації

Для проведення ферментації у виробничому біореакторі (Р-2) використовують оптимізоване поживне середовище №2 з таким складом (г/дм³):

соєва олія — 10,0; гліцерин — 30,0; натрій цитрат — 4,0; NaNO_3 — 4,0; $\text{K}_2\text{HPO}_4 \times 3\text{H}_2\text{O}$ — 2,0; KH_2PO_4 — 1,2; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,5.

Поживне середовище для культивування готують безпосередньо у ферментері (Р-2) загальним об'ємом 1 м³. У стерильний ферментер заливають 600 дм³ водопровідної води. З урахуванням додавання 30 дм³ посівного матеріалу з інокулятора (Р-1), внесення гліцерину та утворення конденсату під час стерилізації гострою парою, об'єм середовища становить 700 дм³. При ввімкненій мішалці додають солі до їх повного розчинення, після чого вносять соєву олію та гліцерин. Середовище стерилізують гострою парою при 120 °С протягом 30 хвилин, охолоджують до температури 32±2 °С і відбирають пробу для перевірки стерильності [178].

ТП 3.2. Вирощування штаму-продуцента у ферментері

Промислове культивування проводять у ферментері (Р-2) загальною місткістю 1 м³ та робочим об'ємом 700 дм³, оснащеному турбінною мішалкою з нижнім приводом, термостатичною оболонкою та вихровою аераційною системою.

Засів ферментера (Р-2) здійснюють посівним матеріалом, підготовленим в інокуляторі (Р-1), у кількості 5 % від об'єму поживного середовища. Перекачування посівного матеріалу з інокулятора проводять за допомогою стисненого стерильного повітря. Перед засівом засівну лінію стерилізують гострою парою при 120 °С протягом 20 хвилин.

Швидкість обертання мішалки встановлюють на рівні 450 об./хв, а витрату повітря — 700 дм³/хв. Протягом усього процесу ферментації кожні 5 годин здійснюють мікробіологічний контроль, вимірюють оптичну щільність середовища та концентрацію біосурфактантів. Загальна тривалість культивування становить 96 годин [178].

ТП 4. Виділення цільових продуктів *Pseudomonas* sp. PS-17

Продукт № 1. Супернатант культуральної рідини

ТП 4.1. Відокремлення культуральної рідини шляхом сепарування

Культуральну рідину з ферментера (Р-2) за допомогою насоса (Н-1) подають у тарілчастий сепаратор (С-1). Волога біомаса періодично видаляється автоматичним механізмом у реактор (Р-4), звідки надходить на сушіння.

ТП 4.2. Термічна обробка супернатанту культуральної рідини

Супернатант культуральної рідини направляють у збірник (Р-3), де його нагрівають глухою парою до 70 °С і витримують протягом 20 хвилин при постійному перемішуванні. Після термообробки до супернатанту культуральної рідини додають консервант, і отриманий продукт відправляють на фасування.

Супернатант культуральної рідини як готовий продукт має такі характеристики: вміст поверхнево-активних речовин — $15,0 \pm 0,5$ г/дм³; поверхневий натяг — $29,0 \pm 0,8$ мН/м; індекс емульгування — 80 ± 3 %.

Продукти №2 та №3 – Біокомплекс (концентрат ПАР) та надосадова рідина відповідно

ТП 4.3. Осадження рамноліпідного біокомплексу за допомогою кислот

У реакторі (Р-3) супернатант культуральної рідини підкислюють 10% розчином НСl, що подається з ємності (Є-1), доводячи рН до 3,0 при одночасному перемішуванні та нагріванні до 100 °С.

ТП 4.4. Відділення осаду ПАР шляхом центрифугування

Суспензію, отриману в реакторі (Р-3), за допомогою насоса (Н-2) подають у сепаратор (С-1). Вологий осад ПАР (**Продукт №2**) автоматично вивантажується в збірник (З-1), звідки надходить на фасування. Фугат спрямовують у збірник (З-2).

Продукт №3. Рамноліпіди

ТП 4.5. Екстракція рамноліпідів

Вологий осад ПАР із сепаратора (С-1) надходить у реактор (Р-5), де піддається екстракції під час перемішування.

ТП 4.6. Фільтрація рамноліпідів

Екстракт із реактора (Р-5) подають на фільтр (Ф-4), тоді як використані екстрагенти направляють на регенерацію.

ТП 4.7. Висушування рамноліпідів

Розчин ліпідів із фільтра (Ф-4) за допомогою насоса (Н-5) подають у сушарку (ВСШ-1). Після завершення сушіння продукт спрямовується на фасування.

ПМВ 5. Пакування, маркування, відвантаження продукту

Маркування продукції здійснюється державною мовою та мовою, передбаченою умовами контракту на постачання. Кожна пакувальна одиниця має бути промаркована або забезпечена етикеткою із зазначенням назви виробника, його адреси, товарного знака, номера партії, маси нетто, дати виготовлення та терміну придатності. Продукт № 1 (супернатант культуральної рідини) фасують у поліетиленові каністри місткістю 10 дм³. Термін його зберігання становить 6 місяців за температури не вище 5 °С при додаванні консерванту. Продукт № 2 (біокомплекс) і продукт № 3 (рамноліпіди) фасують у герметичні поліетиленові пакети масою по 100 г. За температури зберігання не вище 10 °С їх термін придатності становить 1 рік.

ЗВ 6. Знешкодження відходів

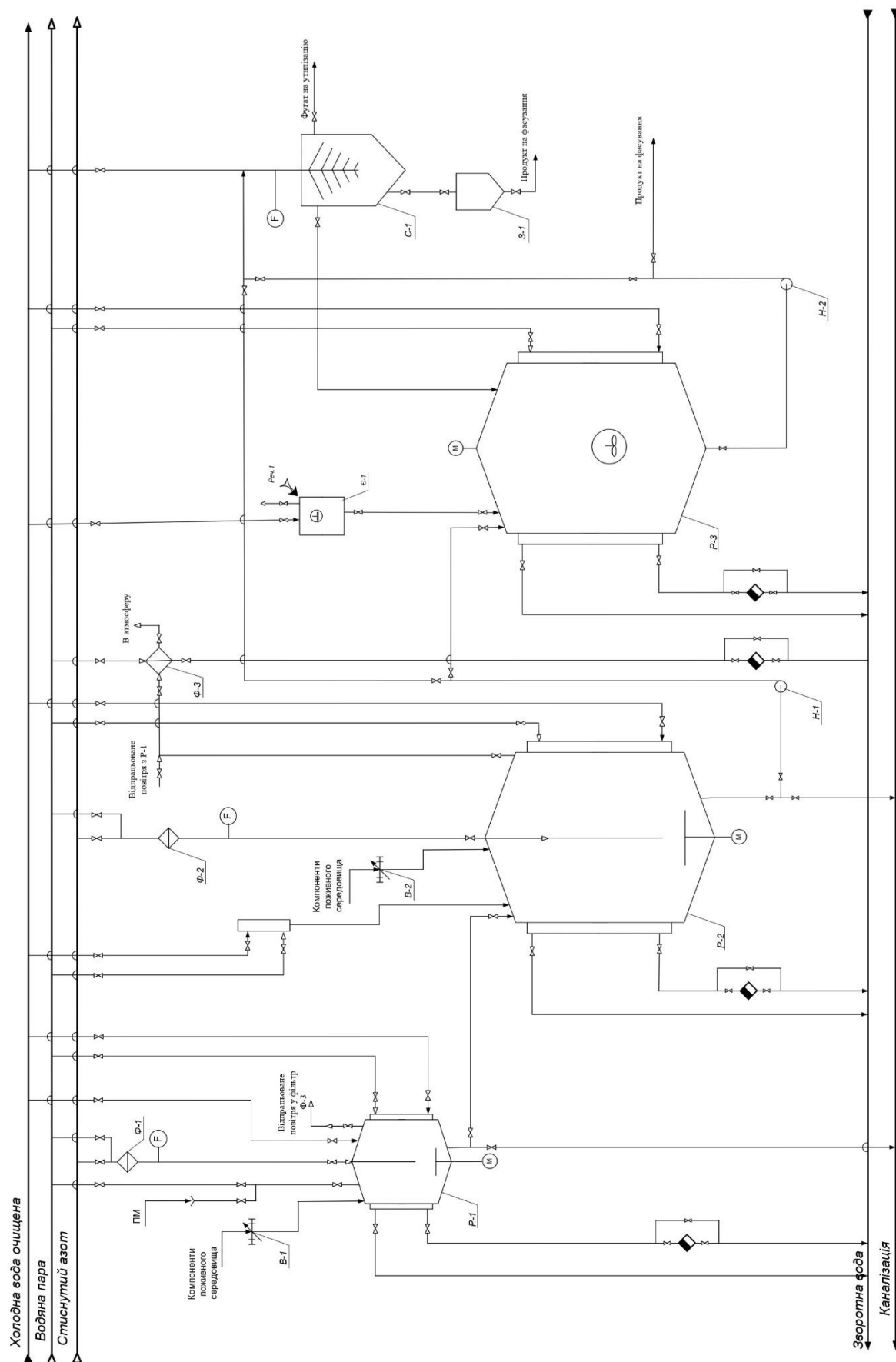
Завершальним етапом технологічного процесу є регенерація та утилізація відходів, що включає знешкодження некондиційного посівного матеріалу, вентиляційного й технологічного повітря під час його викиду в атмосферу, бракованих партій продукції, залишків пакувальних матеріалів тощо. Цей етап гарантує екологічну безпечність виробництва зазначених продуктів.

ЗВ 6.1. Обеззаражування та відведення стічних вод

Система очищення стічних вод передбачає два етапи: первинний та вторинний. На стадії первинного очищення здійснюється механічне видалення забруднень шляхом вловлювання великих домішок, тоді як вторинне очищення проводиться в комплексі очисних споруд. Суміш розчинників, що утворюється після екстракції ПАР, направляють на регенерацію.

ЗВ 6.2. Очищення викидів у повітря

Видалення механічних домішок із повітряних викидів здійснюється за допомогою циклонів. Очищене повітря виводиться в атмосферу, тоді як твердий осад змішують зі стічними водами (ЗВ 6.1) і направляють на біологічну очистку.



ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі обґрунтовано і практично розв'язано важливе науково-прикладне завдання — розроблення біоінженерних підходів до оптимізації процесів синтезу мікробних полімерів і сурфактантів шляхом побудови, оцінки точності та застосування моделей, що враховують особливості середовищ, обмеження обсягу експериментальних даних і економічні чинники. Запропоновані моделі, реалізовані з використанням сучасного програмного інструментарію, продемонстрували високу прогностичну здатність і ефективність для задач багатокритеріальної оптимізації, що підтверджує їх доцільність для подальшого впровадження в дослідницькі та промислові біотехнологічні процеси.

1. Проведено всебічний аналіз сучасного стану досліджень у галузі мікробного синтезу сурфактантів і полімерів. Проведено маркетинговий аналіз світового та українського ринку біосурфактантів. Систематизовано основні підходи до підвищення ефективності біопроектів, а також вивчено тенденції застосування біоінженерного моделювання. Встановлено, що сучасні проблеми масштабування виробництва потребують поєднання біоінженерних підходів, зокрема з використанням математичного моделювання та машинного навчання.

2. Побудовано моделі другого порядку з використанням RSM для штаму *Bacillus subtilis* GSP16, які відобразили залежність синтезу біосурфактанту від п'яти ключових параметрів середовища. Отримані моделі продемонстрували високий коефіцієнт детермінації і були використані для побудови поверхонь відгуку, виявлення критичних зон та виконання економічної оптимізації. Це підтвердило придатність RSM для емпіричного аналізу у біотехнологічних дослідженнях із класичним дизайном експерименту.

3. Реалізовано регуляризоване поліноміальне моделювання (Ridge-регресію) для штаму *Pseudomonas* sp. PS-17, що дозволило підвищити надійність прогнозів процесів біосинтезу за умов наявності взаємозалежностей між компонентами середовища. Створені моделі для виходу біомаси, рамноліпідів і екзополісахаридів забезпечили задовільну точність відтворення експериментальних залежностей та дозволили виявити ключові компоненти, що впливають на вихід продукту, зокрема

гліцерол та натрій нітрат. Отримані моделі були використані в задачах однокритеріальної та багатокритеріальної оптимізації.

4. Створено GPR-моделі для опису синтезу полігідроксикарбоатів і біомаси мікроорганізмами штаму *Rhodococcus ruber* UCM Ac-288. Моделі продемонстрували високу точність навіть за обмеженої кількості експериментальних точок та дозволили провести кількісний аналіз невизначеності через оцінку стандартних відхилень прогнозу. Побудовано карти очікуваного покращення, які окреслили перспективні зони простору факторів для майбутніх експериментів. Отримані результати підтверджують перевагу використання GPR для моделювання в умовах обмежених даних.

5. Розроблено та реалізовано стратегії однокритеріальної і багатокритеріальної оптимізації вихідних параметрів з урахуванням економічних чинників. Для кожної з моделей сформовано функції бажаності, що дозволили виявити точки з високим рівнем компромісу між цільовими показниками. Як додаткову оптимізаційну умову, враховано економічну складову — вартість поживного середовища. Застосування економічного моделювання у поєднанні з біоінженерними прогнозами забезпечило обґрунтовану оптимізацію технологічних умов для підвищення ефективності виробничих процесів.

6. Розроблені біоінженерні підходи та моделі біосинтезу сурфактантів і полімерів впроваджені на біотехнологічних підприємствах для оптимізації складу поживного середовища та умов культивування. Запропоновані підходи дозволили врахувати вартість компонентів середовища, що сприяло підвищенню ефективності та економічної доцільності виробництва. Результати дослідження використані також у науковій практиці для планування та оптимізації експериментальних досліджень у галузі біотехнології полімерів, поверхнево-активних речовин і супутніх метаболітів.

7. Розроблено програму, що дозволяє здійснити оптимізацію процесів біосинтезу з урахуванням технологічних та економічних параметрів. Реалізовані алгоритми моделювання й оптимізації дозволяють визначати компромісні умови культивування для досягнення максимальної продуктивності, що підвищує ефективність біотехнологічних процесів і сприяє їх практичному впровадженню.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Torres, N. V., & Santos, G. (2015). The (Mathematical) Modeling Process in Biosciences. *Frontiers in Genetics*, 6. doi:10.3389/fgene.2015.00354
2. Fasim, A., More, V. S., & More, S. S. (2021). Large-scale production of enzymes for biotechnology uses. *Current Opinion in Biotechnology*, 69, 68–76. doi:10.1016/j.copbio.2020.12.002
3. Guo, X., & Wang, J. (2025). Kinetic models in environmental biotechnological processes: Origin, derivation and applications. *Chemosphere*, 374, 144217. doi:10.1016/j.chemosphere.2025.144217
4. Aniza, R., Chen, W.-H., Yang, F.-C., Pugazhendh, A., & Singh, Y. (2022). Integrating Taguchi method and artificial neural network for predicting and maximizing biofuel production via torrefaction and pyrolysis. *Bioresource Technology*, 343, 126140. doi:10.1016/j.biortech.2021.126140
5. Cheon, A., Sung, J., Jun, H., Jang, H., Kim, M., & Park, J. (2022). Application of Various Machine Learning Models for Process Stability of Bio-Electrochemical Anaerobic Digestion. *Processes*, 10(1), Article 1. doi:10.3390/pr10010158
6. Helleckes, L. M., Hemmerich, J., Wiechert, W., Lieres, E. von, & Grünberger, A. (2023). Machine learning in bioprocess development: From promise to practice. *Trends in Biotechnology*, 41(6), 817–835. doi:10.1016/j.tibtech.2022.10.010
7. Narayanan, H., Dingfelder, F., Butté, A., Lorenzen, N., Sokolov, M., & Arosio, P. (2021). Machine Learning for Biologics: Opportunities for Protein Engineering, Developability, and Formulation. *Trends in Pharmacological Sciences*, 42(3), 151–165. doi:10.1016/j.tips.2020.12.004
8. Blaabjerg, L. M., Kassem, M. M., Good, L. L., Jonsson, N., Cagiada, M., Johansson, K. E., Boomsma, W., Stein, A., & Lindorff-Larsen, K. (2023). Rapid protein stability prediction using deep learning representations. *eLife*, 12, e82593. doi:10.7554/eLife.82593
9. Mey, F., Clauwaert, J., Van Huffel, K., Waegeman, W., & De Mey, M. (2021). Improving the performance of machine learning models for biotechnology: The quest for

- deus ex machina. *Biotechnology Advances*, 53, 107858. doi:10.1016/j.biotechadv.2021.107858
10. Mahmoud, Y. A.-G., El-Naggar, M. E., Abdel-Megeed, A., & El-Newehy, M. (2021). Recent Advancements in Microbial Polysaccharides: Synthesis and Applications. *Polymers*, 13(23), Article 23. doi:10.3390/polym13234136
 11. Siddharth, T., Sridhar, P., Vinila, V., & Tyagi, R. D. (2021). Environmental applications of microbial extracellular polymeric substance (EPS): A review. *Journal of Environmental Management*, 287, 112307. doi:10.1016/j.jenvman.2021.112307
 12. Thakur, V., Baghmare, P., Verma, A., Verma, J. S., & Geed, S. R. (2024). Recent progress in microbial biosurfactants production strategies: Applications, technological bottlenecks, and future outlook. *Bioresource Technology*, 408, 131211. doi:10.1016/j.biortech.2024.131211
 13. Montoya Vallejo, C., Flórez Restrepo, M. A., Guzmán Duque, F. L., & Quintero Díaz, J. C. (2021). Production, characterization and kinetic model of biosurfactant produced by lactic acid bacteria. *Electronic Journal of Biotechnology*, 53, 14–22. doi:10.1016/j.ejbt.2021.06.001
 14. Alvarado, K., Niño, L., & Gelves, G. (2022). Kinetic modeling of biosurfactant production from crude oil using *Bacillus subtilis* cells. *South African Journal of Chemical Engineering*, 41, 176–181. doi:10.1016/j.sajce.2022.06.009
 15. Duvigneau, S., Dürr, R., Wulkow, M., & Kienle, A. (2022). Multiscale modeling of the microbial production of polyhydroxyalkanoates using two carbon sources. *Computers & Chemical Engineering*, 160, 107740. doi:10.1016/j.compchemeng.2022.107740
 16. Keković, P., Borges, M., Faria, N. T., & Ferreira, F. C. (2022). Towards Mannosylerythritol Lipids (MELs) for Bioremediation: Effects of NaCl on *M. antarcticus* Physiology and Biosurfactant and Lipid Production; Ecotoxicity of MELs. *Journal of Marine Science and Engineering*, 10(11), Article 11. doi:10.3390/jmse10111773
 17. Gharaie, S., Ohadi, M., Hassanshahian, M., Shakibaie, M., Shahriary, P., & Forootanfar, H. (2023). Glycolipopeptide biosurfactant from *Bacillus pumilus* SG: Physicochemical characterization, optimization, antibiofilm and antimicrobial activity evaluation. *3 Biotech*, 13(10), 321. doi:10.1007/s13205-023-03728-3

18. Zahri, K. N. M., Khalil, K. A., Gomez-Fuentes, C., Zulkharnain, A., Sabri, S., Convey, P., Lim, S., & Ahmad, S. A. (2021). Mathematical Modelling of Canola Oil Biodegradation and Optimisation of Biosurfactant Production by an Antarctic Bacterial Consortium Using Response Surface Methodology. *Foods*, 10(11), Article 11. doi:10.3390/foods10112801
19. Rond’ošová, S., Legerská, B., Chmelová, D., Ondrejovič, M., & Miertuš, S. (2022). Optimization of Growth Conditions to Enhance PHA Production by *Cupriavidus necator*. *Fermentation*, 8(9), Article 9. doi:10.3390/fermentation8090451
20. Demšar, J., & Zupan, B. (2021). Hands-on training about overfitting. *PLOS Computational Biology*, 17(3), e1008671. doi:10.1371/journal.pcbi.1008671
21. Naik, P., & Ranade, V. (2022). Mathematical Modelling as a Tool to Optimize PHA Production by *Massilia* spp. *methodology (RSM)*, 11, 12.
22. Moshtagh, B., Hawboldt, K., & Zhang, B. (2022). Kinetic modeling of biosurfactant production by *Bacillus subtilis* N3-1P using brewery waste. *Chemical Product and Process Modeling*, 17(4), 331–339. doi:10.1515/cppm-2020-0118
23. Adiandri, R. S., Purwadi, R., Hoerudin, & Setiadi, T. (2021). Estimation of the biomass yield and stoichiometric coefficient during bioproduct formation through thermodynamic approach: A case study of biosurfactant production. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 1143(1), 012016. doi:10.1088/1757-899X/1143/1/012016
24. Vares, C. A., Agostinho, S. P., Fred, A. L. N., Faria, N. T., & Rodrigues, C. A. V. (2025). Machine Learning Strategies for Forecasting Mannosylerythritol Lipid Production Through Fermentation: A Proof-of-Concept. *Applied Sciences*, 15(7), Article 7. doi:10.3390/app15073709
25. Adetunji, A. I., & Olaniran, A. O. (2021). Production and potential biotechnological applications of microbial surfactants: An overview. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(1), 669–679. doi:10.1016/j.sjbs.2020.10.058
26. Jarvis, F. G., & Johnson, M. J. (1949). A Glyco-lipide Produced by *Pseudomonas Aeruginosa*. *Journal of the American Chemical Society*, 71(12), 4124–4126. doi:10.1021/ja01180a073

27. Поліш, Н. В., & Марінцова, Н. Г. (2021). БІОГЕННІ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНІ РЕЧОВИНИ ЯК ПЕРСПЕКТИВНІ ЕКОЛОГІЧНО БЕЗПЕЧНІ ЗАСОБИ ДЛЯ ВИКОРИСТАННЯ В АГРОПРОМИСЛОВОСТІ ТА МЕДИЦИНІ. *Publishing House «Baltija Publishing»*. doi:10.30525/978-9934-26-025-4-13
28. Gautam, K. K., & Tyagi, V. K. (2006). Microbial Surfactants: A Review. *Journal of Oleo Science*, 55(4), 155–166. doi:10.5650/jos.55.155
29. Celligoi, M. A. P. C., Silveira, V. A. I., Hipólito, A., Caretta, T. O., & Baldo, C. (2020). Sophorolipids: A review on production and perspectives of application in agriculture. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 18(3), Article 3. doi:10.5424/sjar/2020183-15225
30. Câmara, J. M. D. A., Sousa, M. A. S. B., Barros Neto, E. L., & Oliveira, M. C. A. (2019). Application of rhamnolipid biosurfactant produced by *Pseudomonas aeruginosa* in microbial-enhanced oil recovery (MEOR). *Journal of Petroleum Exploration and Production Technology*, 9(3), 2333–2341. doi:10.1007/s13202-019-0633-x
31. Helmy, Q., Gustiani, S., & Mustikawati, A. T. (2020). Application of rhamnolipid biosurfactant for bio-detergent formulation. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 823(1), 012014. doi:10.1088/1757-899X/823/1/012014
32. Bouassida, M., Fourati, N., Ghazala, I., Ellouze-Chaabouni, S., & Ghribi, D. (2018). Potential Application of *Bacillus subtilis* SPB1 Biosurfactants in Laundry Detergent Formulations: Compatibility Study with Detergent Ingredients and Washing Performance. *Engineering in Life Sciences*, 18(1), 70–77. doi:10.1002/elsc.201700152
33. Gaur, V. K., Bajaj, A., Regar, R. K., Kamthan, M., Jha, R. R., Srivastava, J. K., & Manickam, N. (2019). Rhamnolipid from a *Lysinibacillus sphaericus* strain IITR51 and its potential application for dissolution of hydrophobic pesticides. *Bioresource Technology*, 272, 19–25. doi:10.1016/j.biortech.2018.09.144
34. Englezos, V., Giacosa, S., Rantsiou, K., Rolle, L., & Cocolin, L. (2017). *Starmarella bacillaris* in winemaking: Opportunities and risks. *Current Opinion in Food Science*, 17, 30–35. doi:10.1016/j.cofs.2017.08.007
35. Janek, T., Krasowska, A., Czyżnikowska, Ż., & Łukaszewicz, M. (2018). Trehalose Lipid Biosurfactant Reduces Adhesion of Microbial Pathogens to Polystyrene and

- Silicone Surfaces: An Experimental and Computational Approach. *Frontiers in Microbiology*, 9. doi:10.3389/fmicb.2018.02441
36. Roy, A. A. (2018). Review on the Biosurfactants: Properties, Types and Its Applications. *J Fundam Renewable Energy Appl*, 8(1), 248. doi:10.4172/2090-4541.1000248.
37. Silva, R. D. C. F. S., Almeida, D. G., Rufino, R. D., Luna, J. M., Santos, V. A., & Sarubbo, L. A. (2014). Applications of Biosurfactants in the Petroleum Industry and the Remediation of Oil Spills. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(7), Article 7. doi:10.3390/ijms150712523
38. Retamal-Morales, G., Heine, T., Tischler, J. S., Erler, B., Gröning, J. A. D., Kaschabek, S. R., Schlömann, M., Levicán, G., & Tischler, D. (2018). Draft genome sequence of *Rhodococcus erythropolis* B7g, a biosurfactant producing actinobacterium. *Journal of Biotechnology*, 280, 38–41. doi:10.1016/j.jbiotec.2018.06.001
39. Sekhon Randhawa, K. K., & Rahman, P. K. S. M. (2014). Rhamnolipid biosurfactants—Past, present, and future scenario of global market. *Frontiers in Microbiology*, 5. doi:10.3389/fmicb.2014.00454
40. Thakur, P., Saini, N. K., Thakur, V. K., Gupta, V. K., Saini, R. V., & Saini, A. K. (2021). Rhamnolipid the Glycolipid Biosurfactant: Emerging trends and promising strategies in the field of biotechnology and biomedicine. *Microbial Cell Factories*, 20(1), 1. doi:10.1186/s12934-020-01497-9
41. Zhao, F., Wang, Q., Zhang, Y., & Lei, L. (2021). Anaerobic biosynthesis of rhamnolipids by *Pseudomonas aeruginosa*: Performance, mechanism and its application potential for enhanced oil recovery. *Microbial Cell Factories*, 20(1), 103. doi:10.1186/s12934-021-01593-4
42. Chong, H., & Li, Q. (2017). Microbial production of rhamnolipids: Opportunities, challenges and strategies. *Microbial Cell Factories*, 16(1), 137. doi:10.1186/s12934-017-0753-2
43. Wittgens, A., Kovacic, F., Müller, M. M., Gerlitzki, M., Santiago-Schübel, B., Hofmann, D., Tiso, T., Blank, L. M., Henkel, M., Hausmann, R., Syldatk, C., Wilhelm, S., & Rosenau, F. (2017). Novel insights into biosynthesis and uptake of rhamnolipids

- and their precursors. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 101(7), 2865–2878. doi:10.1007/s00253-016-8041-3
44. Soberón-Chávez, G., González-Valdez, A., Soto-Aceves, M. P., & Cocotl-Yañez, M. (2021). Rhamnolipids produced by *Pseudomonas*: From molecular genetics to the market. *Microbial Biotechnology*, 14(1), 136–146. doi:10.1111/1751-7915.13700
 45. Parry A. J., Parry N. J., Peilow A. C., Stevenson P. S. Combinations of Rhamnolipids and Enzymes for Improved Cleaning. *European Patent Office*. EP2596087A1, May 29, 2013.
 46. Magalhães, L., & Nitschke, M. (2013). Antimicrobial activity of rhamnolipids against *Listeria monocytogenes* and their synergistic interaction with nisin. *Food Control*, 29(1), 138–142. doi:10.1016/j.foodcont.2012.06.009
 47. Piljac T., Piljac G. Use of Rhamnolipids as Cosmetics. *European Patent Office*. EP1056462B1, July 25, 2007.
 48. Sachdev, D. P., & Cameotra, S. S. (2013). Biosurfactants in agriculture. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(3), 1005–1016. doi:10.1007/s00253-012-4641-8
 49. Isoda, H., Shinmoto, H., Matsumura, M., & Nakahara, T. (1995). Succinoyl trehalose lipid induced differentiation of human monocytoid leukemic cell line U937 into monocyte-macrophages. *Cytotechnology*, 19(1), 79–88. doi:10.1007/BF00749758
 50. Ortiz, A., Teruel, J. A., Espuny, M. J., Marqués, A., Manresa, Á., & Aranda, F. J. (2008). Interactions of a *Rhodococcus* sp. biosurfactant trehalose lipid with phosphatidylethanolamine membranes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1778(12), 2806–2813. doi:10.1016/j.bbamem.2008.07.016
 51. Ortiz, A., Teruel, J. A., Manresa, Á., Espuny, M. J., Marqués, A., & Aranda, F. J. (2011). Effects of a bacterial trehalose lipid on phosphatidylglycerol membranes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1808(8), 2067–2072. doi:10.1016/j.bbamem.2011.05.003
 52. Zaragoza, A., Aranda, F. J., Espuny, M. J., Teruel, J. A., Marqués, A., Manresa, A., & Ortiz, A. (2009). Mechanism of Membrane Permeabilization by a Bacterial Trehalose Lipid Biosurfactant Produced by *Rhodococcus* sp. *Langmuir*, 25(14), 7892–7898. doi:10.1021/la900480q

53. Zaragoza, A., Aranda, F. J., Espuny, M. J., Teruel, J. A., Marqués, A., Manresa, Á., & Ortiz, A. (2010). Hemolytic Activity of a Bacterial Trehalose Lipid Biosurfactant Produced by *Rhodococcus* sp.: Evidence for a Colloid-Osmotic Mechanism. *Langmuir*, 26(11), 8567–8572. doi:10.1021/la904637k
54. Zaragoza, A., Teruel, J. A., Aranda, F. J., Marqués, A., Espuny, M. J., Manresa, Á., & Ortiz, A. (2012). Interaction of a *Rhodococcus* sp. Trehalose Lipid Biosurfactant with Model Proteins: Thermodynamic and Structural Changes. *Langmuir*, 28(2), 1381–1390. doi:10.1021/la203879t
55. Kareem, M. K. A., & Mussa, A. H. (2020). A review of biosurfactants (glycolipids): the characteristics, composition and application. *Int J Psychosoc Rehabil*, 24(05), 3795-807. doi:10.37200/ijpr/v24i5/pr202088
56. Christova, N., & Stoineva, I. (2014). Trehalose biosurfactants. *Biosurfactants—Recent Trends and Applications; Mulligan, CN, Sharma, SK, Mudhoo, A., Eds*, 197-216.
57. Takayama, K., Wang, C., & Besra, G. S. (2005). Pathway to synthesis and processing of mycolic acids in *Mycobacterium tuberculosis*. *Clinical Microbiology Reviews*, 18(1), 81–101. doi:10.1128/CMR.18.1.81-101.2005
58. White, D. A., Hird, L. C., & Ali, S. T. (2013). Production and characterization of a trehalolipid biosurfactant produced by the novel marine bacterium *Rhodococcus* sp., strain PML026. *Journal of Applied Microbiology*, 115(3), 744–755. doi:10.1111/jam.12287
59. Гудзь, С. П.; Гнатуш, С. О.; Яворська, Г. В.; Білінська, С. І.; Борсукевич, Б. М. *Практикум з мікробіології : підручник*, серія «Біологічні студії»; ЛНУ імені Івана Франка: Львів, 2014, с 436.
60. Sudesh, K.; Abe, H.; Doi, Y. (2000). Synthesis, structure and properties of polyhydroxyalkanoates: biological polyesters. *Prog. Polym. Sci*, 25, pp 1503-1555. doi:10.1016/S0079-6700(00)00035-6
61. Ojumu, T. V., Yu, J., & Solomon, B. O. (2004). Production of polyhydroxyalkanoates, a bacterial biodegradable polymers. *African journal of Biotechnology*, 3(1), 18-24. doi:10.5897/AJB2004.000-2004

62. Khanna, S.; Srivastava, A. K. (2005). Recent advances in microbial polyhydroxyalkanoates. *Process Biochem*, 40 (2): pp 607-619. doi:10.1016/j.procbio.2004.01.053
63. Liu, Y., Li, D., Ran, X., Nie, W., Semeniuk, I., Koretska, N. (2025). Synthesis, Structure, and Properties of Polyhydroxybutyrate Derived from *Azotobacter vinelandii* N-15. *ChemistryOpen*, e2500150, doi:10.1002/open.202500150
64. Semeniuk, I., Pokynbroda, T., Kochubei, V., Midyana, H., Karpenko, O., Skorokhoda, V. (2020). Biosynthesis and characteristics of polyhydroxyalkanoates. 1. Polyhydroxybutyrates of *Azotobacter vinelandii* N-15. *Chemistry & Chemical Technology*, Vol. 14, No. 4, doi:10.23939/chcht14.04.463
65. Trakunjae, C., Boondaeng, A., Apiwatanapiwat, W., Kosugi, A., Arai, T., Sudesh, K., Vaithanomsat, P. (2021). Enhanced polyhydroxybutyrate (PHB) production by newly isolated rare actinomycetes *Rhodococcus* sp. strain BSRT1-1 using response surface methodology. *Scientific reports*, 11(1), 1896. doi:10.1038/s41598-021-81386-2
66. Adnan, M., Siddiqui, A. J., Ashraf, S. A., Snoussi, M., Badraoui, R., Ibrahim, A. M., Patel, M. (2023). Characterization and process optimization for enhanced production of polyhydroxybutyrate (PHB)-based biodegradable polymer from *Bacillus flexus* isolated from municipal solid waste landfill site. *Polymers*, 15(6), 1407. doi:10.3390/polym15061407
67. Semeniuk, I., Kochubei, V., Skorokhoda, V., Pokynbroda, T., Midyana, H., Karpenko, E., Melnyk, V. (2020). Biosynthesis products of *Pseudomonas* sp. PS-17 strain metabolites. 1. Obtaining and thermal characteristics. *Chemistry & Chemical Technology*, Vol. 14, No. 1, pp. 26–31. <https://doi.org/10.23939/chcht14.01.026>
68. Семенюк І. В., Корецька Н. І., Покинсьброда Т. Я., Кочубей В. В., Семенюк Н. Б. Мельник Ю. Я. (2024). Дослідження гідролітичної деградації полігідроксіалканоксидів і їх сумішей з полілактидами. *Chemistry, Technology and Application of Substances*. Vol. 7, No. 1. doi:10.23939/ctas2024.01.237
69. Braunegg, G., Lefebvre, G., Genser, K. F. (1998). Polyhydroxyalkanoates, biopolyesters from renewable resources: physiological and engineering aspects. *J Biotechnol*, 65, 127-61. doi:10.1016/S0168-1656(98)00126-6

70. Skorokhoda, V., Semeniuk, I., Peretyatko, T., Kochubei, V., Ivanukh, O., Melnyk, Y., Stetsyshyn, Y. (2025). Biodegradation of Polyhydroxybutyrate, Polylactide, and Their Blends by Microorganisms, Including Antarctic Species: Insights from Weight Loss, XRD, and Thermal Studies. *Polymers*, 17(5), 675. doi:10.3390/polym17050675
71. Семенюк І. В., Кочубей В. В., Скорохода В. Й., Мельник Ю. Я., Семенюк Н. Б., Корецька Н. І., Покинсьброда Т. Я. (2022). Температурні і фізико-механічні властивості термопластичних матеріалів на основі полігідроксибутирату. *Voprosy khimii i khimicheskoi tekhnologii*, 6, 80-87. doi:10.32434/0321-4095-2022-145-6-80-87
72. Muneer, F., Rasul, I., Azeem, F., Siddique, M., Zubair, M., Nadeem, H. (2020). Microbial Polyhydroxyalkanoates (PHAs): Efficient Replacement of Synthetic Polymers. *J Polym Environ*, 28, 2301–2323. doi:10.1007/s10924-020-01772-1
73. Mukheem, A., Shahabuddin, S., Khan, A.A., Hossain, M.M., Jasni, A.H., Sridewi, N. (2021). Bio-plastic Polyhydroxyalkanoate (PHA): Applications in Modern Medicine. In: *Kuddus, M., Roohi (eds) Bioplastics for Sustainable Development. Springer, Singapore*. doi:10.1007/978-981-16-1823-9_8
74. Amelia, T.S.M, Govindasamy, S., Tamothran, A.M., Vigneswari, S., Bhupalan, K. (2019). Applications of PHA in Agriculture. In: *Kalia, V. (Eds) Biotechnological Applications of Polyhydroxyalkanoates. Springer, Singapore*. doi:10.1007/978-981-13-3759-8_13
75. Bugnicourt, E., Cinelli, P., Lazzeri, A., Alvarez, V. A. (2014). Polyhydroxyalkanoate (PHA): Review of synthesis, characteristics, processing and potential applications in packaging. *eXPRESS Polymer Letters*, 8 (11), 791–808. doi:10.3144/expresspolymlett.2014.82
76. Koretska, N., Semeniuk, I., Pokynbroda, T., Shcheglova, N., Karpenko, O., Kytsya, A., Lubenets, V., Polish, N. (2023). Polyhydroxyalkanoates: Biosynthesis Optimization and Design of Antimicrobial Composites. *Innov Biosyst Bioeng*, 7(2):32-41. doi:10.20535/ibb.2023.7.2.280017
77. De Oliveira, M. R., Camilios-Neto, D., Baldo, C., Magri, A., & Celligoi, M. A. P. C. (2014). Biosynthesis and production of sophorolipids. *Int. J. Sci. Technol. Res*, 3(11), 133-146

78. Cortés-Sánchez, A. de J., Hernández-Sánchez, H., & Jaramillo-Flores, M. E. (2013). Biological activity of glycolipids produced by microorganisms: New trends and possible therapeutic alternatives. *Microbiological Research*, 168(1), 22–32. doi:10.1016/j.micres.2012.07.002
79. Ciesielska, K., Van Bogaert, I. N., Chevineau, S., Li, B., Groeneboer, S., Soetaert, W., Van de Peer, Y., & Devreese, B. (2014). Exoproteome analysis of *Starmerella bombicola* results in the discovery of an esterase required for lactonization of sophorolipids. *Journal of Proteomics*, 98, 159–174. doi:10.1016/j.jprot.2013.12.026
80. Ciesielska, K., Li, B., Groeneboer, S., Van Bogaert, I., Lin, Y.-C., Soetaert, W., Van de Peer, Y., & Devreese, B. (2013). SILAC-Based Proteome Analysis of *Starmerella bombicola* Sophorolipid Production. *Journal of Proteome Research*, 12(10), 4376–4392. doi:10.1021/pr400392a
81. Díaz De Rienzo, M. A., Banat, I. M., Dolman, B., Winterburn, J., & Martin, P. J. (2015). Sophorolipid biosurfactants: Possible uses as antibacterial and antibiofilm agent. *New Biotechnology*, 32(6), 720–726. doi:10.1016/j.nbt.2015.02.009
82. Ahuekwe, E. F., Okoli, B. E., Stanley, H. O., & Kinigoma B. (2016). Evaluation of Hydrocarbon Emulsification and Heavy Metal Detoxification Potentials of Sophorolipid Biosurfactants Produced from Waste Substrates Using Yeast and Mushroom. *SPE African Health, Safety, Security, Environment, and Social Responsibility Conference and Exhibition. Accra, Ghana*, October 4-6. doi:10.2118/183578-MS
83. Minucelli, T., Ribeiro-Viana, R. M., Borsato, D., Andrade, G., Cely, M. V. T., de Oliveira, M. R., Baldo, C., & Celligoi, M. A. P. C. (2017). Sophorolipids Production by *Candida bombicola* ATCC 22214 and Its Potential Application in Soil Bioremediation. *Waste and Biomass Valorization*, 8(3), 743–753. doi:10.1007/s12649-016-9592-3
84. Sun, M., Ye, M., Jiao, W., Feng, Y., Yu, P., Liu, M., Jiao, J., He, X., Liu, K., Zhao, Y., Wu, J., Jiang, X., & Hu, F. (2018). Changes in tetracycline partitioning and bacteria/phage-comediated ARGs in microplastic-contaminated greenhouse soil facilitated by sophorolipid. *Journal of Hazardous Materials*, 345, 131–139. doi:10.1016/j.jhazmat.2017.11.036

85. Arima, K., Kakinuma, A., & Tamura, G. (1968). Surfactin, a crystalline peptidelipid surfactant produced by *Bacillus subtilis*: Isolation, characterization and its inhibition of fibrin clot formation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 31(3), 488–494. doi:10.1016/0006-291X(68)90503-2
86. Shaligram, N. S., & Singhal, R. S. (2010). Surfactin – A Review on Biosynthesis, Fermentation, Purification and Applications. *Food Technology and Biotechnology*, 48(2), 119–134.
87. Théatre, A., Cano-Prieto, C., Bartolini, M., Laurin, Y., Deleu, M., Niehren, J., Fida, T., Gerbinet, S., Alanjary, M., Medema, M. H., Léonard, A., Lins, L., Arabolaza, A., Gramajo, H., Gross, H., & Jacques, P. (2021). The Surfactin-Like Lipopeptides From *Bacillus spp.*: Natural Biodiversity and Synthetic Biology for a Broader Application Range. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9. doi:10.3389/fbioe.2021.623701
88. Taira, T., Yanagisawa, S., Nagano, T., Tsuji, T., Endo, A., & Imura, T. (2017). pH-induced conformational change of natural cyclic lipopeptide surfactin and the effect on protease activity. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 156, 382–387. doi:10.1016/j.colsurfb.2017.05.017
89. Janek, T., Gudiña, E. J., Połomska, X., Biniarz, P., Jama, D., Rodrigues, L. R., Rymowicz, W., & Lazar, Z. (2021). Sustainable Surfactin Production by *Bacillus subtilis* Using Crude Glycerol from Different Wastes. *Molecules*, 26(12), Article 12. doi:10.3390/molecules26123488
90. Czinkóczy, R., & Nemeth, A. (2020). The Effect of pH on Biosurfactant Production by *Bacillus Subtilis* DSM10. *Hungarian Journal of Industry and Chemistry*, 48(2), 37–43. doi:10.33927/hjic-2020-25
91. Arutchelvi, J. I., Bhaduri, S., Uppara, P. V., & Doble, M. (2008). Mannosylerythritol lipids: A review. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 35(12), 1559–1570. doi:10.1007/s10295-008-0460-4
92. Morita, T., Fukuoka, T., Imura, T., & Kitamoto, D. (2015). Mannosylerythritol Lipids: Production and Applications. *Journal of Oleo Science*, 64(2), 133–141. doi:10.5650/jos.ess14185

93. Shu, Q., Wei, T., Lu, H., Niu, Y., & Chen, Q. (2020). Mannosylerythritol lipids: Dual inhibitory modes against *Staphylococcus aureus* through membrane-mediated apoptosis and biofilm disruption. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(11), 5053–5064. doi:10.1007/s00253-020-10561-8
94. Mawani, J. S., Mali, S. N., & Pratap, A. P. (2023). Formulation and evaluation of antidandruff shampoo using mannosylerythritol lipid (MEL) as a bio-surfactant. *Tenside Surfactants Detergents*, 60(1), 44–53. doi:10.1515/tsd-2022-2449
95. Matosinhos, R. D., Cesca, K., Carciofi, B. A. M., de Oliveira, D., & de Andrade, C. J. (2023). Mannosylerythritol lipids as green pesticides and plant biostimulants. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 103(1), 37–47. doi:10.1002/jsfa.12100
96. Inoh, Y., Kitamoto, D., Hirashima, N., & Nakanishi, M. (2004). Biosurfactant MEL-A dramatically increases gene transfection via membrane fusion. *Journal of Controlled Release*, 94(2), 423–431. doi:10.1016/j.jconrel.2003.10.020
97. Bakur, A., Elshaarani, T., Niu, Y., & Chen, Q. (2019). Comparative study of antidiabetic, bactericidal, and antitumor activities of MEL@AgNPs, MEL@ZnONPs, and Ag–ZnO/MEL/GA nanocomposites prepared by using MEL and gum arabic. *RSC Advances*, 9(17), 9745–9754. doi:10.1039/C9RA00344D
98. Mulligan, C. N. (2023). Sustainable Production of Biosurfactants Using Waste Substrates. In R. Aslam, M. Mobin, J. Aslam, & S. Zehra (Eds.), *Advancements in Biosurfactants Research* (pp. 57–77). Springer International Publishing. doi:10.1007/978-3-031-21682-4_3
99. Sharon, A. B., Ahuekwe, E. F., Nzubechi, E. G., Oziegbe, O., & Oniha, M. (2023). Statistical optimization strategies on waste substrates for solving high-cost challenges in biosurfactants production: A review. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1197(1), 012004. doi:10.1088/1755-1315/1197/1/012004
100. Noll, P., Solarte-Toro, J. C., Restrepo-Serna, D. L., Treinen, C., Poveda-Giraldo, J. A., Henkel, M., Cardona Alzate, C. A., & Hausmann, R. (2024). Limits for sustainable biosurfactant production: Techno-economic and environmental assessment of a rhamnolipid production process. *Bioresource Technology Reports*, 25, 101767. doi:10.1016/j.biteb.2024.101767

101. Nurfarahin, A. H., Mohamed, M. S., & Phang, L. Y. (2018). Culture Medium Development for Microbial-Derived Surfactants Production—An Overview. *Molecules*, 23(5), Article 5. doi:10.3390/molecules23051049
102. Tomar, G. S., & Srinikethan, G. (2016). Studies on Production of Biosurfactant from *Pseudomonas aeruginosa* (MTCC7815) & Its Application in Microbial Enhanced Oil Recovery. *Research Journal of Chemical and Environmental Sciences*, 4, 84–91
103. Santa Anna, L. M., Sebastian, G. V., Menezes, E. P., Alves, T. L. M., Santos, A. S., Pereira Jr., N., & Freire, D. M. G. (2002). Production of biosurfactants from *Pseudomonas aeruginosa* PA 1 isolated in oil environments. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 19, 159–166. doi:10.1590/S0104-66322002000200011
104. Hippolyte, M. T., Augustin, M., Hervé, T. M., Robert, N., & Devappa, S. (2018). Application of response surface methodology to improve the production of antimicrobial biosurfactants by *Lactobacillus paracasei subsp. tolerans* N2 using sugar cane molasses as substrate. *Bioresources and Bioprocessing*, 5(1), 48. doi:10.1186/s40643-018-0234-4
105. Agarry, S. E., Salam, K. K., Arinkoola, A., & Aremu, M. O. (2015). Biosurfactant production by indigeneous *Pseudomonas* and *Bacillus species* isolated from auto-mechanic soil environment towards microbial enhanced oil recovery. *European Journal of Engineering and Technology*, 3(6), 27–39
106. Guerra-Santos, L., Käppeli, O., & Fiechter, A. (1984). *Pseudomonas aeruginosa* biosurfactant production in continuous culture with glucose as carbon source. *Applied and Environmental Microbiology*, 48(2), 301–305. doi:10.1128/aem.48.2.301-305.1984
107. Akbari, E., Rasekh, B., Maal, K. B., Karbasiun, F., Yazdian, F., Emami-Karvani, Z., & Peighami, R. (2021). A novel biosurfactant producing *Kocuria rosea* ABR6 as potential strain in oil sludge recovery and lubrication. *AMB Express*, 11(1), 131. doi:10.1186/s13568-021-01283-9
108. Zheng, C., Li, Z., Su, J., Zhang, R., Liu, C., & Zhao, M. (2012). Characterization and emulsifying property of a novel bioemulsifier by *Aeribacillus pallidus* YM-1. *Journal of Applied Microbiology*, 113(1), 44–51. doi:10.1111/j.1365-2672.2012.05313.x

109. Adetunji, A. I., & Olaniran, A. O. (2019). Production and characterization of bioemulsifiers from *Acinetobacter* strains isolated from lipid-rich wastewater. *3 Biotech*, 9(4), 151. doi:10.1007/s13205-019-1683-y
110. Drakontis, C. E., & Amin, S. (2020). Biosurfactants: Formulations, properties, and applications. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 48, 77–90. doi:10.1016/j.cocis.2020.03.013
111. Roy, A. (2017). A Review on the Biosurfactants: Properties, Types and its Applications. *J Fundam Renewable Energy Appl*, 8(1), 248. doi:10.4172/2090-4541.1000248
112. Sajid, M., Ahmad Khan, M. S., Singh Cameotra, S., & Safar Al-Thubiani, A. (2020). Biosurfactants: Potential applications as immunomodulator drugs. *Immunology Letters*, 223, 71–77. doi:10.1016/j.imlet.2020.04.003
113. Zakaria Gomaa, E. (2013). Antimicrobial and anti-adhesive properties of biosurfactant produced by lactobacilli isolates, biofilm formation and aggregation ability. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 59(6), 425–436. doi:10.2323/jgam.59.425
114. Amani, H., Sarrafzadeh, M. H., Haghighi, M., & Mehrnia, M. R. (2010). Comparative study of biosurfactant producing bacteria in MEOR applications. *Journal of Petroleum Science and Engineering*, 75(1), 209–214. doi:10.1016/j.petrol.2010.11.008
115. S.j., G., Banat, I. M., & Joshi, S. J. (2018). Biosurfactants: Production and potential applications in microbial enhanced oil recovery (MEOR). *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 14, 23–32. doi:10.1016/j.bcab.2018.01.010
116. Khademolhosseini, R., Jafari, A., Mohammad Mousavi, S., Hajfarajollah, H., Akbari Noghabi, K., & Manteghian, M. (2019). Physicochemical characterization and optimization of glycolipid biosurfactant production by a native strain of *Pseudomonas aeruginosa* HAK01 and its performance evaluation for the MEOR process. *RSC Advances*, 9(14), 7932–7947. doi:10.1039/c8ra10087j
117. Mnif, I., & Ghribi, D. (2016). Glycolipid biosurfactants: Main properties and potential applications in agriculture and food industry. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(13), 4310–4320. doi:10.1002/jsfa.7759

118. Mouafo, H. T., Sokamte, A. T., Mbawala, A., Ndjouenkeu, R., & Devappa, S. (2022). Biosurfactants from lactic acid bacteria: A critical review on production, extraction, structural characterization and food application. *Food Bioscience*, 46, 101598. doi:10.1016/j.fbio.2022.101598
119. Chen, J., Wu, Q., Hua, Y., Chen, J., Zhang, H., & Wang, H. (2017). Potential applications of biosurfactant rhamnolipids in agriculture and biomedicine. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 101(23), 8309–8319. doi:10.1007/s00253-017-8554-4
120. Kumar, A., Singh, S. K., Kant, C., Verma, H., Kumar, D., Singh, P. P., Modi, A., Droby, S., Kesawat, M. S., Alavilli, H., Bhatia, S. K., Saratale, G. D., Saratale, R. G., Chung, S.-M., & Kumar, M. (2021). Microbial Biosurfactant: A New Frontier for Sustainable Agriculture and Pharmaceutical Industries. *Antioxidants*, 10(9), Article 9. doi:10.3390/antiox10091472
121. Ben Khedher, S., Boukedi, H., Laarif, A., & Tounsi, S. (2020). Biosurfactant produced by *Bacillus subtilis* V26: A potential biological control approach for sustainable agriculture development. *Organic Agriculture*, 10(1), 117–124. doi:10.1007/s13165-020-00316-0
122. Araújo, H. W. C., Andrade, R. F. S., Montero-Rodríguez, D., Rubio-Ribeaux, D., Alves da Silva, C. A., & Campos-Takaki, G. M. (2019). Sustainable biosurfactant produced by *Serratia marcescens* UCP 1549 and its suitability for agricultural and marine bioremediation applications. *Microbial Cell Factories*, 18(1), 2. doi:10.1186/s12934-018-1046-0
123. Monod, J. (1949). The growth of bacterial cultures. *Annual Review of Microbiology*, 3, 371–394. doi:10.1146/annurev.mi.03.100149.002103
124. Som, A. M., & Yahya, A. (2021). Kinetics and performance study of ultrasonic-assisted membrane anaerobic system using Monod Model for Palm Oil Mill Effluent (POME) treatment. *Cleaner Engineering and Technology*, 2, 100075. doi:10.1016/j.clet.2021.100075
125. Dawi, M. A., & Sanchez-Vila, X. (2022). Simulating degradation of organic compounds accounting for the growth of microorganisms (Monod kinetics) in a fully

- Lagrangian framework. *Journal of Contaminant Hydrology*, 251, 104074. doi:10.1016/j.jconhyd.2022.104074
126. Keesman, K. J., & Stigter, J. D. (2003). Optimal input design for low-dimensional systems: An Haldane kinetics example. 2003 European Control Conference (ECC), 1583–1588. doi:10.23919/ECC.2003.7085188
127. Luedeking, R., & Piret, E. L. (2000). A kinetic study of the lactic acid fermentation. Batch process at controlled pH. Reprinted from *Journal of Biochemical and Microbiological Technology Engineering* Vol. I, No. 4. Pages 393–412 (1959). *Biotechnology and Bioengineering*, 67(6), 636–644. doi:10.1002/(sici)1097-0290(20000320)67:6<636::aid-bit3>3.0.co;2-u
128. Cui, Y.-W., Shi, Y.-P., & Gong, X.-Y. (2017). Effects of C/N in the substrate on the simultaneous production of polyhydroxyalkanoates and extracellular polymeric substances by *Haloferax mediterranei* via kinetic model analysis. *RSC Advances*, 7(31), 18953–18961. doi:10.1039/C7RA02131C
129. Garnier, A., & Gaillet, B. (2015). Analytical solution of Luedeking–Piret equation for a batch fermentation obeying Monod growth kinetics. *Biotechnology and Bioengineering*, 112(12), 2468–2474. doi:10.1002/bit.25669
130. Kourmentza, C., Plácido, J., Venetsaneas, N., Burniol-Figols, A., Varrone, C., Gavala, H. N., & Reis, M. A. M. (2017). Recent Advances and Challenges towards Sustainable Polyhydroxyalkanoate (PHA) Production. *Bioengineering*, 4(2), Article 2. doi:10.3390/bioengineering4020055
131. Li, M., & Wilkins, M. R. (2020). Recent advances in polyhydroxyalkanoate production: Feedstocks, strains and process developments. *International Journal of Biological Macromolecules*, 156, 691–703. doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.04.082
132. Zhou, Y., Yang, X., Li, Q., Peng, Z., Li, J., & Zhang, J. (2023). Optimization of fermentation conditions for surfactin production by *B. subtilis* YPS-32. *BMC Microbiology*, 23(1), 117. doi:10.1186/s12866-023-02838-5
133. Henkel, M., Schmidberger, A., Vogelbacher, M., Kühnert, C., Beuker, J., Bernard, T., Schwartz, T., Syltatk, C., & Hausmann, R. (2014). Kinetic modeling of rhamnolipid production by *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 including cell density-dependent

- regulation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(16), 7013–7025. doi:10.1007/s00253-014-5750-3
134. Junker, B. H. (2004). Scale-up methodologies for *Escherichia coli* and yeast fermentation processes. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 97(6), 347–364. doi:10.1016/S1389-1723(04)70218-2
135. Hamdy, S. M., Danial, A. W., Gad El-Rab, S. M. F., Shoreit, A. A. M., & Hesham, A. E.-L. (2022). Production and optimization of bioplastic (Polyhydroxybutyrate) from *Bacillus cereus* strain SH-02 using response surface methodology. *BMC Microbiology*, 22(1), 183. doi:10.1186/s12866-022-02593-z
136. Dong, H., Zheng, A., He, Y., Wang, X., Li, Y., Yu, G., Gu, Y., M. Banat, I., Sun, S., She, Y., & Zhang, F. (2022). Optimization and characterization of biosurfactant produced by indigenous *Brevibacillus borstelensis* isolated from a low permeability reservoir for application in MEOR. *RSC Advances*, 12(4), 2036–2047. doi:10.1039/D1RA07663A
137. Abbasi, H., Sharafi ,Hakimeh, Alidost ,Leila, Bodagh ,Atefe, Zahiri ,Hossein Shahbani, & and Noghabi, K. A. (2013). RESPONSE SURFACE OPTIMIZATION OF BIOSURFACTANT PRODUCED BY *Pseudomonas aeruginosa* MA01 ISOLATED FROM SPOILED APPLES. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, 43(4), 398–414. doi:10.1080/10826068.2012.747966
138. Altınışık, S., Nigiz, F. U., Gürdal, S., Yılmaz, K., Tuncel, N. B., & Koyuncu, S. (2025). Optimization of bioethanol production from sugar beet processing by-product molasses using response surface methodology. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 15(7), 9875–9888. doi:10.1007/s13399-024-05786-w
139. Hemalatha, M., & Subathra Devi, C. (2022). A statistical optimization by response surface methodology for the enhanced production of riboflavin from *Lactobacillus plantarum*–HDS27: A strain isolated from bovine milk. *Frontiers in Microbiology*, 13. doi:10.3389/fmicb.2022.982260
140. Zhang, J., & Gao, N. (2007). Application of response surface methodology in medium optimization for pyruvic acid production of *Torulopsis glabrata* TP19 in batch fermentation. *Journal of Zhejiang University. Science. B*, 8(2), 98–104. doi:10.1631/jzus.2007.B0098

141. Kaur, A., & Sarmadi, M. (2024). Comparative Analysis of Machine Learning Techniques for Imbalanced Genetic Data. *Annals of Data Science*. doi:10.1007/s40745-024-00575-8
142. Lovaglio, R. B., Silva, V. L., Ferreira, H., Hausmann, R., & Contiero, J. (2015). Rhamnolipids know-how: Looking for strategies for its industrial dissemination. *Biotechnology Advances*, 33(8), 1715–1726. doi:10.1016/j.biotechadv.2015.09.002
143. Cabrera-Valladares, N., Richardson, A.-P., Olvera, C., Treviño, L. G., Déziel, E., Lépine, F., & Soberón-Chávez, G. (2006). Monorhamnolipids and 3-(3-hydroxyalkanoyloxy)alkanoic acids (HAAs) production using *Escherichia coli* as a heterologous host. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 73(1), 187–194. doi:10.1007/s00253-006-0468-5
144. Dobler, L., Vilela, L. F., Almeida, R. V., & Neves, B. C. (2016). Rhamnolipids in perspective: Gene regulatory pathways, metabolic engineering, production and technological forecasting. *New Biotechnology*, 33(1), 123–135. doi:10.1016/j.nbt.2015.09.005
145. Transparency Market Research. (2024). *Biosurfactants Market*. <https://www.transparencymarketresearch.com/biosurfactants-market.html>
146. The Business Research Company. (2024). *Biosurfactants Global Market Report*. <https://www.thebusinessresearchcompany.com/report/biosurfactants-global-market-report>
147. Fortune Business Insights. (2024). *Biosurfactants Market Size, Share & Industry Analysis*. <https://www.fortunebusinessinsights.com/biosurfactants-market-102761>
148. Ceresa, C., Fracchia, L., Sansotera, A. C., De Rienzo, M. A. D., & Banat, I. M. (2023). Harnessing the Potential of Biosurfactants for Biomedical and Pharmaceutical Applications. *Pharmaceutics*, 15(8), Article 8. doi:10.3390/pharmaceutics15082156
149. Puyol McKenna, P., Naughton, P. J., Dooley, J. S. G., Ternan, N. G., Lemoine, P., & Banat, I. M. (2024). Microbial Biosurfactants: Antimicrobial Activity and Potential Biomedical and Therapeutic Exploits. *Pharmaceutics*, 17(1), Article 1. doi:10.3390/ph17010138

150. Olasanmi, I. O., & Thring, R. W. (2018). The Role of Biosurfactants in the Continued Drive for Environmental Sustainability. *Sustainability*, 10(12), Article 12. doi:10.3390/su10124817
151. Abbot, V., Paliwal, D., Sharma, A., & Sharma, P. (2022). A review on the physicochemical and biological applications of biosurfactants in biotechnology and pharmaceuticals. *Heliyon*, 8(8). doi:10.1016/j.heliyon.2022.e10149
152. Asgher, M., Arshad, S., Qamar, S. A., & Khalid, N. (2020). Improved biosurfactant production from *Aspergillus niger* through chemical mutagenesis: Characterization and RSM optimization. *SN Applied Sciences*, 2(5), 966. doi:10.1007/s42452-020-2783-3
153. Muthaiyan Ahalliya, R., Daniel Raja, F. S., Rangasamy, K., Arumugam, V., Palanisamy, S., Saikia, K., Rathankumar, A. K., Al-Dhabi, N. A., & Arasu, M. V. (2023). Production Cost of Traditional Surfactants and Biosurfactants. In P. Kumar & R. C. Dubey (Eds.), *Multifunctional Microbial Biosurfactants* (pp. 495–511). Springer Nature Switzerland. doi:10.1007/978-3-031-31230-4_22
154. Singh, P., Patil, Y., & Rale, V. (2019). Biosurfactant production: Emerging trends and promising strategies. *Journal of Applied Microbiology*, 126(1), 2–13. doi:10.1111/jam.14057
155. Schonhoff, A., Stöckigt, G., Wulf, C., Zapp, P., & Kuckshinrichs, W. (2023). Biosurfactants' production with substrates from the sugar industry – environmental, cost, market, and social aspects. *RSC Sustainability*, 1(7), 1798–1813. doi:10.1039/D3SU00122A
156. Claus, S., & Van Bogaert, I. N. A. (2017). Sophorolipid production by yeasts: A critical review of the literature and suggestions for future research. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 101(21), 7811–7821. doi:10.1007/s00253-017-8519-7
157. Soares da Silva, R. de C. F., Almeida, D. G., Meira, H. M., Silva, E. J., Farias, C. B. B., Rufino, R. D., Luna, J. M., & Sarubbo, L. A. (2017). Production and characterization of a new biosurfactant from *Pseudomonas cepacia* grown in low-cost fermentative medium and its application in the oil industry. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 12, 206–215. doi:10.1016/j.bcab.2017.09.004

158. Roelants, S., Solaiman, D. K. Y., Ashby, R. D., Lodens, S., Van Renterghem, L., & Soetaert, W. (2019). Production and Applications of Sophorolipids. In D. G. Hayes, D. K. Y. Solaiman, & R. D. Ashby (Eds.), *Biobased Surfactants (Second Edition)* (pp. 65–119). AOCS Press. doi:10.1016/B978-0-12-812705-6.00003-4
159. de Oliveira Schmidt, V. K., de Souza Carvalho, J., de Oliveira, D., & de Andrade, C. J. (2021). Biosurfactant inducers for enhanced production of surfactin and rhamnolipids: An overview. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 37(2), 21. doi:10.1007/s11274-020-02970-8
160. Zhao, H., Shao, D., Jiang, C., Shi, J., Li, Q., Huang, Q., Rajoka, M. S. R., Yang, H., & Jin, M. (2017). Biological activity of lipopeptides from *Bacillus*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 101(15), 5951–5960. doi:10.1007/s00253-017-8396-0
161. Industry ARC. (2024). *Biosurfactants Market*. <https://www.industryarc.com/Report/18209/biosurfactants-market.html>
162. EUR-Lex. (2024). *Regulation (EC) No 648/2004 of the European Parliament and of the Council of 31 March 2004 on detergents (Text with EEA relevance)*. <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2004/648/oj>
163. Hari, A., Doddapaneni, T. R. K. C., & Kikas, T. (2024). Common operational issues and possible solutions for sustainable biosurfactant production from lignocellulosic feedstock. *Environmental Research*, 251, 118665. doi:10.1016/j.envres.2024.118665
164. CFR. (2024). *Code of Federal Regulations Title 21*. <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfCFR/CFRSearch.cfm?CFRPart=172&showFR=1&subpartNode=21:3.0.1.1.3.6>
165. Measures for the Registration of New Chemical Substances for Environmental Management. (2024). *Ministerial Order No. 12*. https://www.mee.gov.cn/xxgk2018/xxgk/xxgk02/202005/t20200507_777913.html
166. Jimoh, A. A., & Lin, J. (2020). Biotechnological Applications of *Paenibacillus* sp. D9 Lipopeptide Biosurfactant Produced in Low-cost Substrates. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 191(3), 921–941. doi:10.1007/s12010-020-03246-5
167. Farias, C. B. B., Silva, R. de C. F. da S., Almeida, F. C. G., Santos, V. A., & Sarubbo, L. A. (2021). Removal of heavy oil from contaminated surfaces with a detergent

formulation containing biosurfactants produced by *Pseudomonas spp.* PeerJ, 9, e12518. doi:10.7717/peerj.12518

168. Rincón-Fontán, M., Rodríguez-López, L., Vecino, X., Cruz, J. M., & Moldes, A. B. (2020). Potential application of a multifunctional biosurfactant extract obtained from corn as stabilizing agent of vitamin C in cosmetic formulations. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 16, 100248. doi:10.1016/j.scp.2020.100248

169. Parthipan, P., Sabarinathan, D., Angaiah, S., & Rajasekar, A. (2018) Glycolipid biosurfactant as an eco-friendly microbial inhibitor for the corrosion of carbon steel in vulnerable corrosive bacterial strains. *Journal of Molecular Liquids*, 261, 473–479. doi:10.1016/j.molliq.2018.04.045

170. Firdose, A., Chong, N. H. H., Ramli, R., & Aqma, W. S. (2023). Antimicrobial, antiadhesive, and antibiofilm actions of rhamnolipids on ESKAPE pathogens. *Letters in Applied Microbiology*, 76(2), ovad013. doi:10.1093/lambio/ovad013

171. Shusterman, E., Mottahedeh, A., & McCarthy, M. (2021). The Synergistic Effects of Rhamnolipids and Antibiotics Against Bacteria. *Journal of Student Research*, 10(2). doi:10.47611/jsrhs.v10i2.1495

172. Amirinejad, N., Shahriary, P., & Hassanshahian, M. (2022). Investigation of the synergistic effect of glycolipid biosurfactant produced by *Shewanella* algae with some antibiotics against planktonic and biofilm forms of MRSA and antibiotic resistant *Acinetobacter baumannii*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 39(2), 45. doi:10.1007/s11274-022-03492-1

173. Mordor Intelligence. (2024). *Biosurfactants Market Size & Share Analysis – Growth Trends & Forecasts*. <https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/biosurfactants-market>

174. Карпенко О.В. Наукові засади створення біотехнологій поверхнево-активних речовин з поліфункціональними властивостями: дис. д-р. техн. наук.: 03.00.20 – біотехнологія / НАН України. Львів, 2015. 417 с.

175. Корецька Н.І. Біотехнологія поверхнево-активних продуктів штаму *Rhodococcus erythropolis* AU-1, властивості та застосування: дис. канд. техн. наук.: 03.00.20 – біотехнологія / НУ КПП ім. Ігоря Сікорського. Київ, 2020. 160 с.

176. Сидоров Ю., Влязло Р., Новіков В. Процеси і апарати мікробіологічної та фармацевтичної промисловості. Навчальний посібник. Львів: “Інтелект-Захід”, 2008. 736 с.
177. Єрохін В. А. Біотехнологія поверхнево-активних рамноліпідів штаму *Pseudomonas* sp. PS-17 у ферментері: дис. ... канд. техн. наук. : 03.00.20 – біотехнологія. Львів, 2015. 170 с.
178. Карпенко І. В. Біотехнологія рамноліпідних поверхнево-активних продуктів штаму *Pseudomonas* sp. PS-17 та їх застосування для олійних рослин: дис. ... канд. техн. наук : 03.00.20 – біотехнологія. Львів, 2017. 141 с.

ДОДАТКИ

ДОДАТОК А

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

Статті

1. Yanvarov Y. B., Havryliak V. V. Biosurfactants: structure, functions and productions // *Biotechnologia Acta*. – 2022. – Vol. 15, No 6. – P. 26-35. (Особистий внесок здобувача – аналіз літературних джерел, узагальнення та обробка одержаних результатів, підготовка статті. Внесок Гавриляк В.В. – постановка проблеми, планування завдань, формування висновків).
2. Yanvarov Y. B., Havryliak V. V. MODELING OF BIOSURFACTANT SYNTHESIS USING BACILLUS SPP // *Chemistry, Technology and Application of Substances*. – 2024. – Vol. 7, No. 1. – P. 177-182. (Особистий внесок – участь у постановці завдань та проведенні дослідження, обробка результатів дослідження, проведення *in silico* моделювання, формування висновків, підготовка статті до публікації).
3. Yanvarov Ye. B., Havryliak V. V. MARKET ANALYSIS OF MICROBIAL SURFACTANTS // *Biotechnologia Acta*. – 2024. – Vol. 17, No 5. – P. 5-13. (Особистий внесок – аналіз літературних джерел, узагальнення та обробка одержаних результатів аналізу, узагальнення результатів, оформлення таблиць та графіків, підготовка статті. Внесок Гавриляк В.В. – участь у постановці завдань та проведенні аналізу, формування висновків).

Тези доповідей

4. Январьов Є. Б., Гавриляк В. В. Аналіз можливих математичних підходів до оптимізації мікробного синтезу екзополісахаридів та біосурфактантів // *Біологія тварин*. - 2022. - Т. 24, № 2 : тези доповідей XX Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених, присвяченої 90-річчю від дня народження доктора біологічних наук, професора, члена-кореспондента НААН, заслуженого діяча науки і техніки України Макара Івана Арсентійовича, 19 травня 2022 року, м. Львів. – С. 80.

5. Январьов Є. Б., Гавриляк В. В. Використання методу поверхні відгуку у біотехнології // Біологія тварин. - 2023. - Т. 25, № 2 : Тези доповідей XXI Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених, присвяченої 100-річчю від дня народження доктора біологічних наук, професора Василя Юхимовича Шавкуна, 18-19 травня 2023 року, м. Львів, Україна. – С. 82.
6. Январьов Є. Б., Гавриляк В. В. Вибір математичних моделей для оптимізації отримання біосурфактантів у біотехнології // Chemical and biopharmaceutical technologies: collection of scientific papers. – 2023. – Р. 147-148.
7. Январьов Є. Б., Гавриляк В. В. Модель Моно для оцінювання кінетики росту мікроорганізмів, які продукують поверхнево-активні речовини/ Актуальні питання біотехнології, екології та природокористування : матеріали міжнародної наукової конференції, 25-26 квітня 2024 р. – 2024. – С. 81-82.

ДОДАТОК Б

Відомості про апробацію результатів дисертації

1. XX Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених, присвяченої 90-річчю від дня народження доктора біологічних наук, професора, члена-кореспондента НААН, заслуженого діяча науки і техніки України Макара Івана Арсентійовича, (Львів, 19 травня 2022) – публікація тез, стендова доповідь.
2. XXI Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених, присвяченої 100-річчю від дня народження доктора біологічних наук, професора Василя Юхимовича Шавкуна, (Львів, 18-19 травня 2023) – публікація тез, стендова доповідь.
3. VI Міжнародної науково-практичної конференції «KyivLvivPharma-2023. Фармацевтична технологія та фармакологія в забезпеченні активного довголіття», (Київ, Львів, 16-18 листопада 2023) – публікація тез.
4. Міжнародна наукова конференція «Актуальні питання біотехнології, екології та природокористування», (Харків, 26-27 квітня 2024) – публікація тез.

ДОДАТОК В



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

професор
з наукової роботи
Національного університету
«Львівська політехніка»
Іван ДЕМИДОВ

12.05.2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження: Прогнозування виходу біологічно активних речовин (біосурфактантів, зокрема, рамноліпідів, а також екзополісахаридів) залежно від концентрацій вхідних компонентів поживного середовища, що мінімізує кількість фізичних експериментів.

2. Установа, її адреса, виконавці: м. Львів, вул. С. Бандери, 12
Кафедра технології біологічно активних речовин, фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка»
Д.б.н., с.н.с. Гавриляк В.В., аспірант Январьов Є.Б.

3. Джерела інформації:

3.1 Yanvarov Y. B., Havryliak V. V. Yanvarov Y. B., Havryliak V. V. Biosurfactants: structure, functions and productions // Biotechnologia Acta. – 2022. – Vol. 15, No 6. – P. 26-35.

3.2 Январьов Є. Б., Гавриляк В. В. Аналіз можливих математичних підходів до оптимізації мікробного синтезу екзополісахаридів та біосурфактантів // Біологія тварин. - 2022. - Т. 24, № 2 : тези доповідей XX Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених, присвяченої 90-річчю від дня народження доктора біологічних наук, професора, члена-кореспондента НААН, заслуженого діяча науки і техніки України Макара Івана Арсентійовича, 19 травня 2022 року, м. Львів. – С. 80.

4. Впроваджено для використання в науковій роботі кафедри технології біологічно активних речовин, фармації та біотехнології - створення адаптивної методології моделювання та оптимізації процесів біосинтезу мікробних метаболітів, яка може бути безпосередньо застосована у дослідницьких лабораторіях, а також масштабована до умов промислових біотехнологій.

5. Термін впровадження: з 01.09.2024 р.

6. Ефективність впровадження відповідно до критеріїв, викладених в п.3.

Показники	За даними	
	розробників	установи, що затверджує
Результати наукових досліджень впроваджені до навчального процесу та використовуються викладачами кафедри під час підготовки лекцій.		

7. Зауваження, пропозиції: розповсюдити отримані позитивні результати впровадження для застосування у навчальному процесі закладів вищої освіти України.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри
технології біологічно активних речовин,
фармації та біотехнології,
доктор хімічних наук, професор

05.05.2025 р.

Віра ЛУБЕНЕЦЬ



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор
з науково-педагогічної роботи
Національного університету
«Львівська політехніка»

Олег ДАВИДЧАК

13 06. 2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження: математичні моделі, що описують залежність виходу цільових продуктів мікробного синтезу - біосурфактантів і полігідроксикарбоатів від технологічних параметрів процесу ферментації, а також методи їх регресійного аналізу, валідації та оптимізації.

2. Установа, її адреса, виконавці: м. Львів, вул. С. Бандери, 12
Кафедра технології біологічно активних речовин, фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка»
Д.б.н., с.н.с. Гавриляк В.В., аспірант Январов Є.Б.

3. Джерела інформації:

3.1 Январов Y. B., Havryliak V. V. Modeling of biosurfactant synthesis using *Bacillus* spp // Chemistry, Technology and Application of Substances. – 2024. – Vol. 7, No. 1. – P. 177-182.

3.2. Январов Є. Б., Гавриляк В. В. Вибір математичних моделей для оптимізації отримання біосурфактантів у біотехнології // Chemical and biopharmaceutical technologies: collection of scientific papers. – 2023. – P. 147-148.

4. Впроваджено для використання в навчальному процесі кафедри технології біологічно активних речовин, фармації та біотехнології при вивченні відповідних тем з освітньої компоненти «Математичне моделювання мікробіологічних процесів».

5. Термін впровадження: з 01.09.2024 р.

6. Ефективність впровадження відповідно до критеріїв, викладених в п.3.

Показники	За даними	
	розробників	установи, що затверджує
Результати наукових досліджень впроваджені до навчального процесу та використовуються викладачами кафедри під час підготовки лекцій.		

7. Зауваження, пропозиції: розповсюдити отримані позитивні результати впровадження для застосування у навчальному процесі закладів вищої освіти України.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри
технології біологічно активних речовин,
фармації та біотехнології,
доктор хімічних наук, професор

12.05. 2025 р.

Віра ЛУБЕНЕЦЬ

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

В. о. проректора
з науково-педагогічної роботи та
інформатизації
Львівського національного університету
ветеринарної медицини та біотехнологій
імені С.З. Житківського

Ігор ДВИЛЮК
2025 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** математичні моделі, що описують залежність виходу цільових продуктів мікробного синтезу - біосурфактантів і полігідроксиалканоеатів від технологічних параметрів процесу ферментації, а також методи їх регресійного аналізу, валідації та оптимізації.

2. **Установа, її адреса, виконавці:** м. Львів, вул. С. Бандери, 12
Кафедра технології біологічно активних речовин, фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка»
Д.б.н., с.н.с. Гавриляк В.В., аспірант Январьов Є.Б.

3. **Джерела інформації:**

3.1 Yanvarov Y. B., Havryliak V. V. Modeling of biosurfactant synthesis using *Bacillus spp* // Chemistry, Technology and Application of Substances. – 2024. – Vol. 7, No. 1. – P. 177-182.

3.2 Январьов Є. Б., Гавриляк В. В. Вибір математичних моделей для оптимізації отримання біосурфактантів у біотехнології // Chemical and biopharmaceutical technologies: collection of scientific papers. – 2023. – P. 147-148.

4. **Впроваджено** для використання в навчальному процесі кафедри біотехнології та радіології при вивченні відповідних тем з освітньої компоненти «Промислова біотехнологія», «Моделювання та масштабування біотехнологічних виробництв у системі GMP».

5. **Термін впровадження:** з 01.05.2025 р.

6. **Ефективність впровадження** відповідно до критеріїв, викладених в п.3.

Показники	За даними	
	розробників	установи, що затверджує
Результати наукових досліджень впроваджені до навчального процесу та використовуються викладачами кафедри під час підготовки лекцій.		

7. **Зауваження, пропозиції:** розповсюдити отримані позитивні результати впровадження для застосування у навчальному процесі закладів вищої освіти України.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри
біотехнології та радіології,
доктор сільськогосподарських наук, професор
13.06 2025 р.

Василь БУЦЯК



НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ

**ВІДДІЛЕННЯ ФІЗИКО-ХІМІЇ ГОРЮЧИХ КОПАЛИН
ІНСТИТУТУ ФІЗИКО-ОРГАНІЧНОЇ ХІМІЇ І ВУГЛЕХІМІЇ
ім. Л. М. ЛИТВИНЕНКА**

79060, м. Львів, вул. Наукова 3а, тел. / факс: +38 032 2635-174

17.06.2025р. № 62

На № _____

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

результатів дисертаційної роботи

“Біоінженерні підходи до оптимізації процесів отримання мікробних полімерів та сурфактантів”,

дисертанта Январьова Єгора Борисовича

на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю

Натепер дослідження за напрямком «Біотехнології та біоінженерія» є актуальними у всьому світі. Тому тема дисертаційної роботи **Єгора Январьова “Біоінженерні підходи до оптимізації процесів отримання мікробних полімерів та сурфактантів”** (спеціальність 162), присвячена оптимізації процесу біосинтезу поверхнево-активних речовин і полімерів, підбору складу поживних середовищ, умов культивування продуцентів із застосуванням сучасних математичних, біоінженерних підходів. Результати дисертації спрямовані на розвиток сучасних контрольованих біотехнологічних процесів, є перспективними, отже, активно впроваджується у наукову роботу Відділення фізико-хімії горючих копалин Інституту фізико-органічної хімії і вуглехімії ім. Л. М. Литвиненка Національної академії наук України.

В.о. директора Відділення ФХГК
ІнФОВ ім. Л.М. Литвиненка
НАН України
д.х.н., ст. досл.



Андрій КИЦЯ

Товариство з обмеженою відповідальністю «КАРПАТОЛ»

Юридична адреса: 01024, м. Київ, вул. Круглоуніверситетська, буд. 7, офіс 26
тел./факс (044) 4627955, 4627956

ЄДРПОУ 36787733

IBAN UA593006140000026002500103146 в ПАТ «КРЕДІ АГРІКОЛЬ БАНК» м.
Київ МФО 300614

Свідоцтво платника ПДВ 100303288

Індивідуальний податковий номер 367877313321

e-mail: karpatol@ukr.net

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ результатів дисертаційної роботи Январьова Єгора Борисовича “ Біоінженерні підходи до оптимізації процесів отримання мікробних полімерів та сурфактантів ”

Результати досліджень із застосування біоінженерних шляхів у біосинтезі поверхнево-активних речовин та полімерів, що представлені у дисертаційній роботі Январьова Єгора Борисовича “Біоінженерні підходи до оптимізації процесів отримання мікробних полімерів та сурфактантів» (спеціальність 162 - Біотехнології та біоінженерія), впроваджуються на підприємстві ТОВ «КАРПАТОЛ» задля оптимального підбору складу поживних середовищ та умов культивування мікроорганізмів-продуцентів. При цьому враховується специфіка цільових продуктів. Результати дисертації спрямовані на розвиток сучасного контролюваного біотехнологічного виробництва, актуального для економіки України.

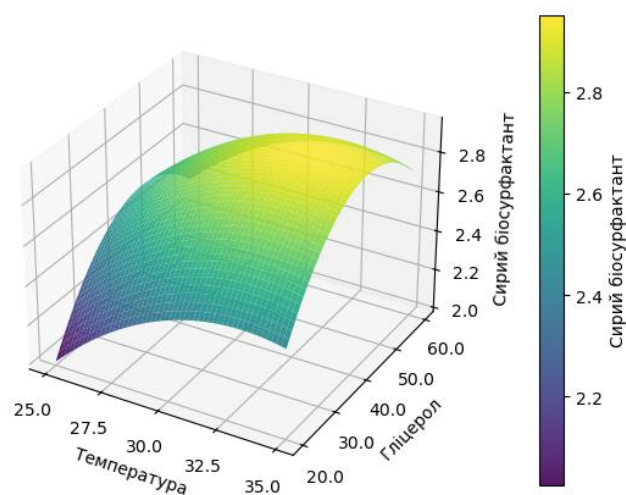
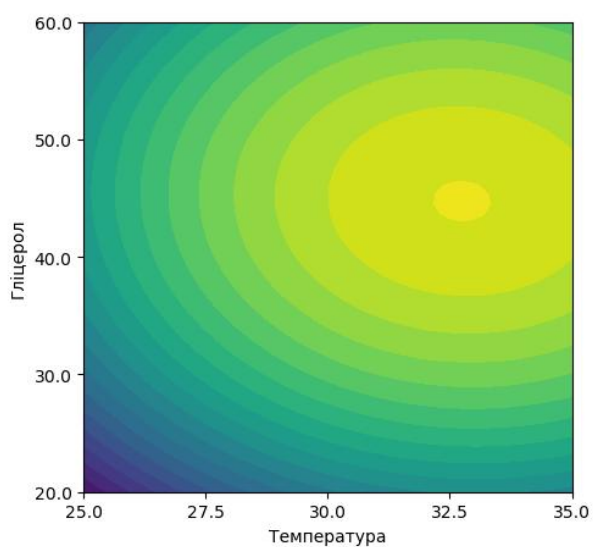
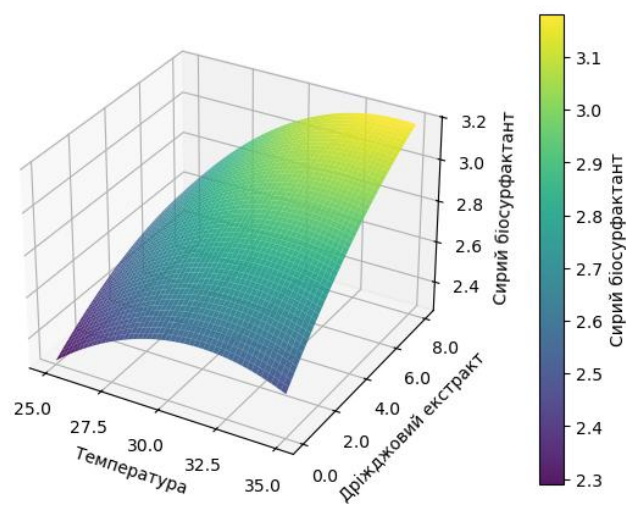
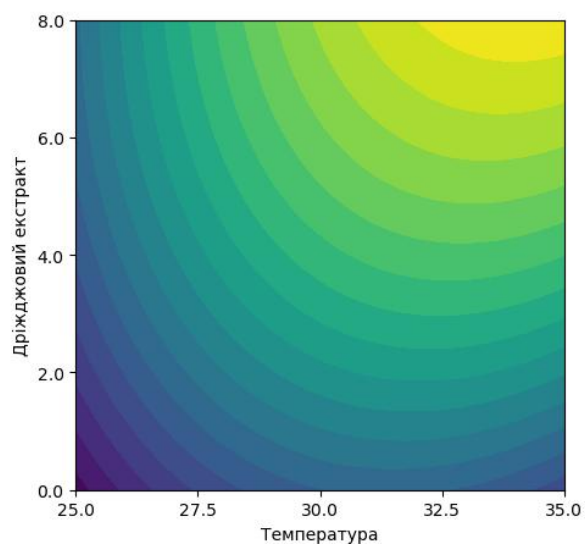
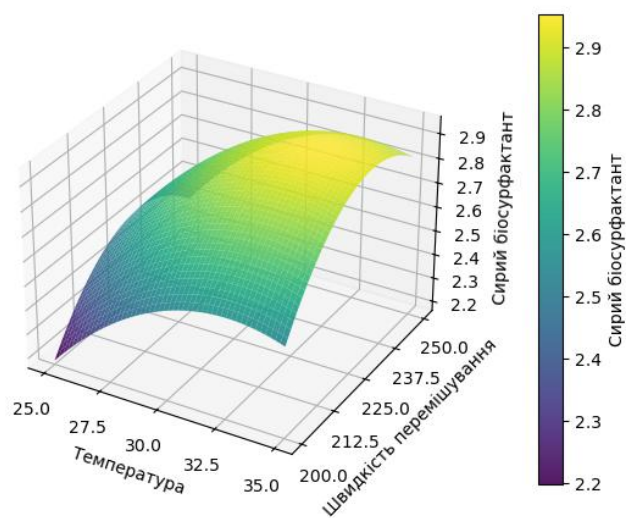
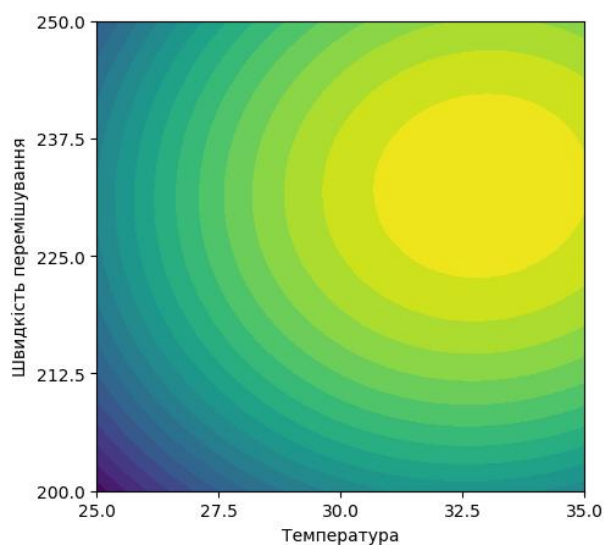
Директор ТОВ «КАРПАТОЛ»

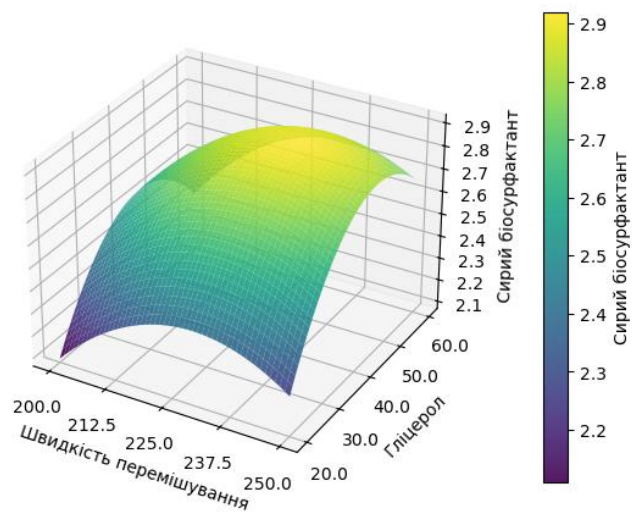
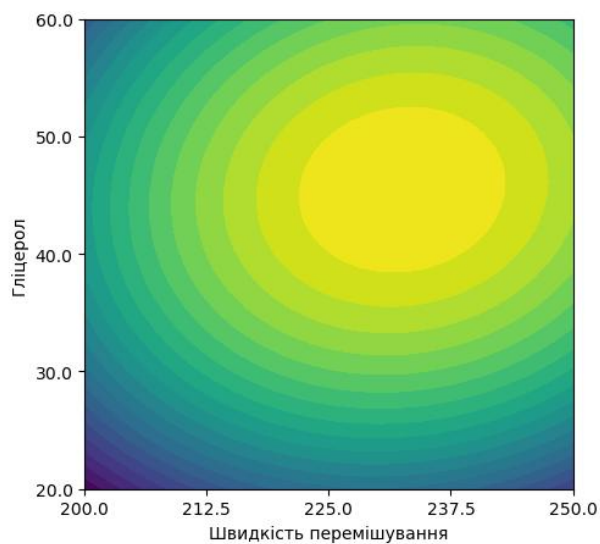
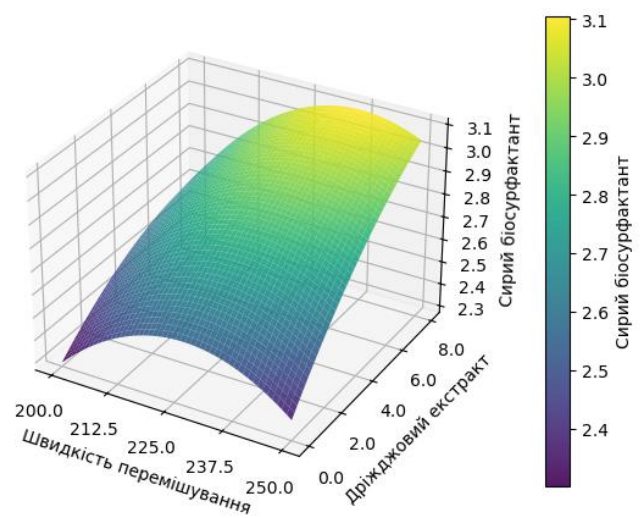
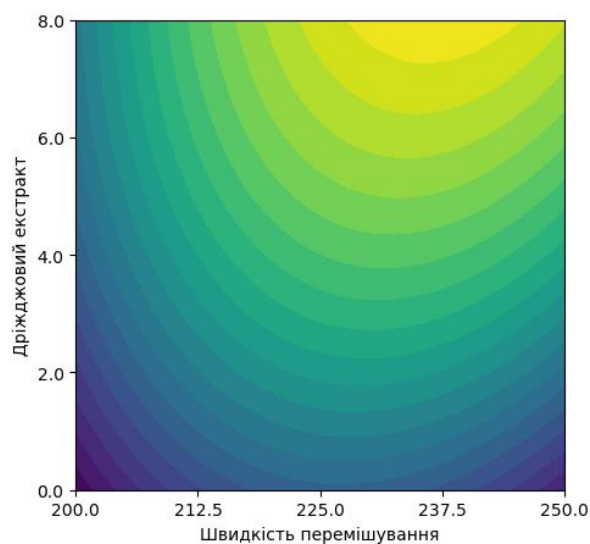
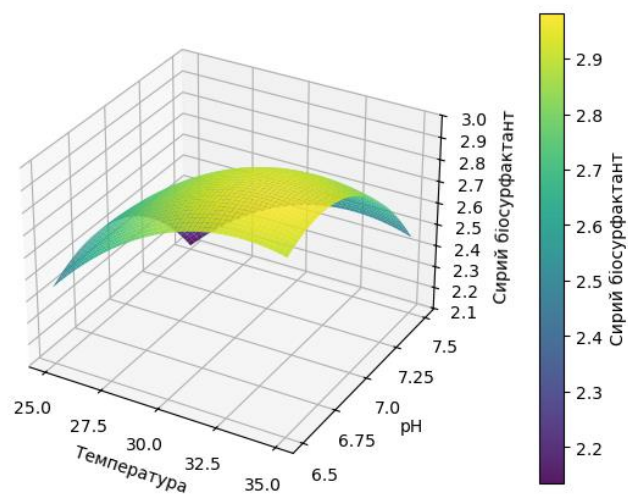
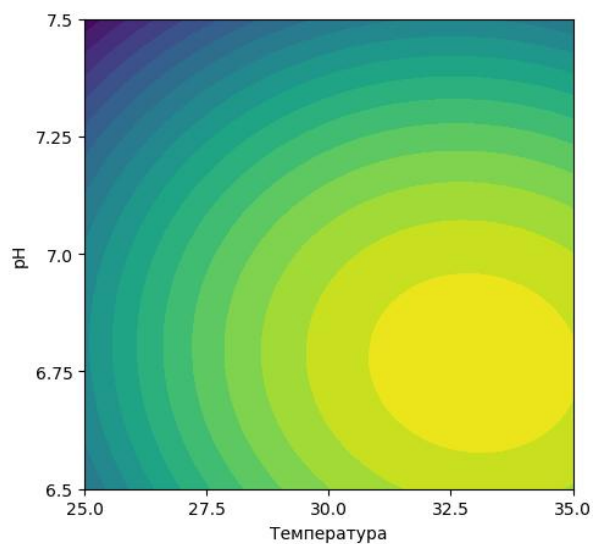


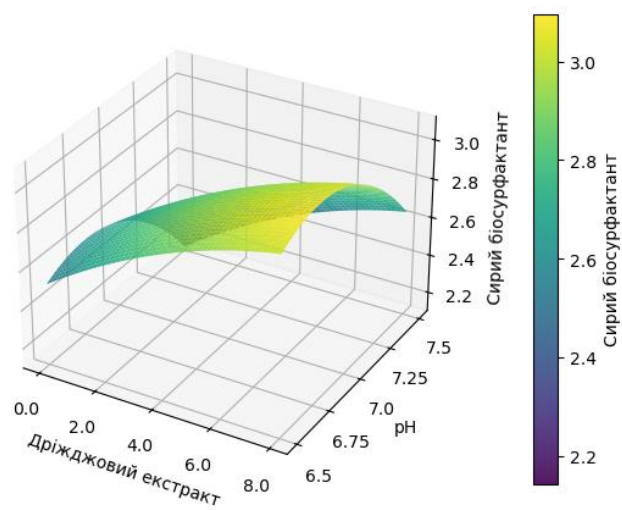
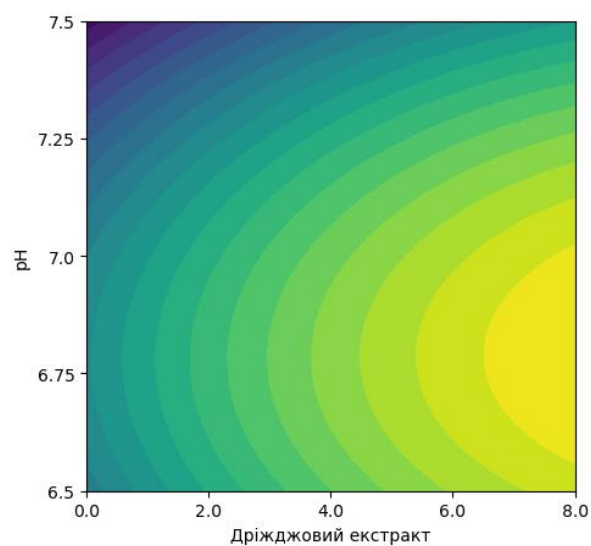
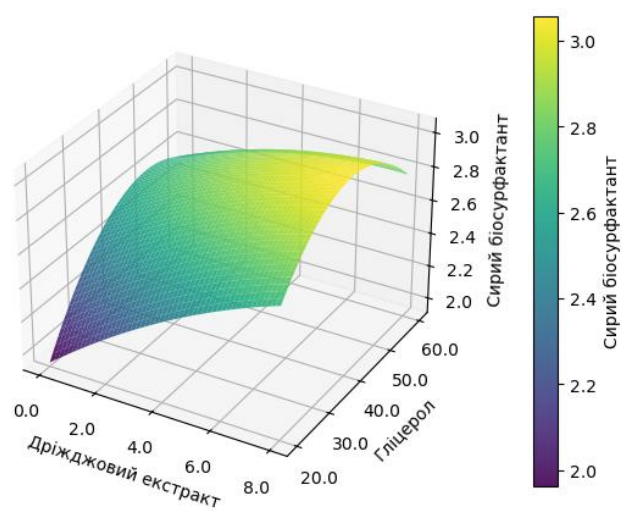
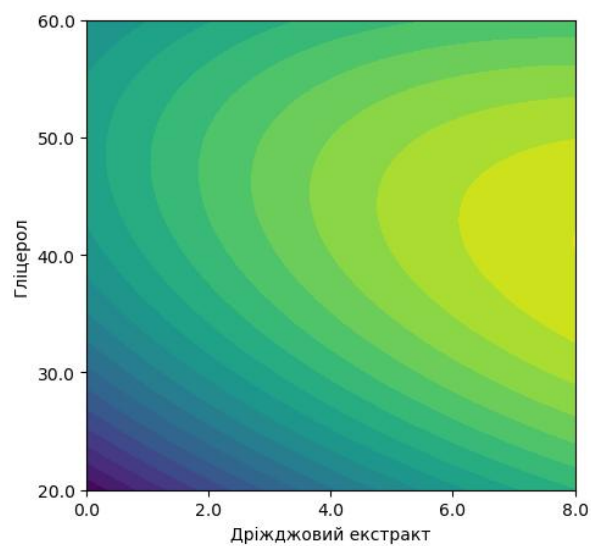
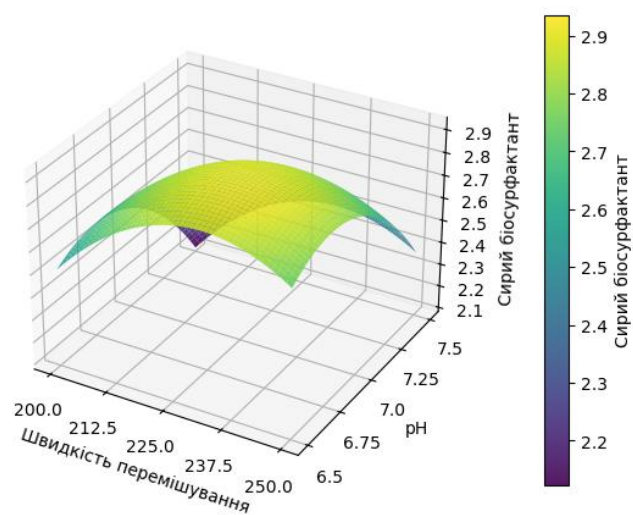
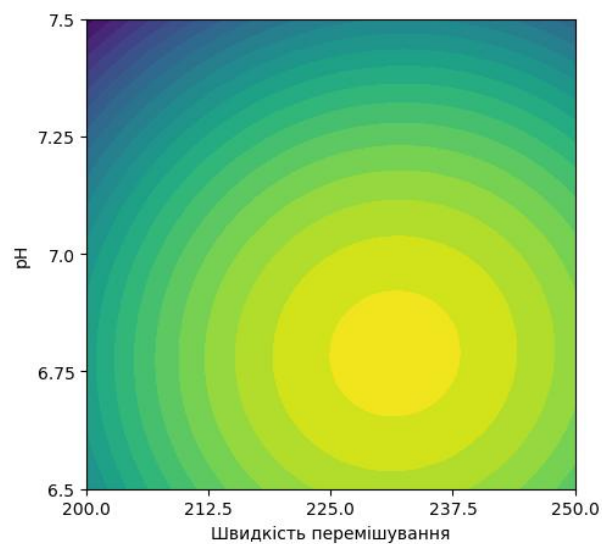
Сергій ІГНАЦЕВИЧ

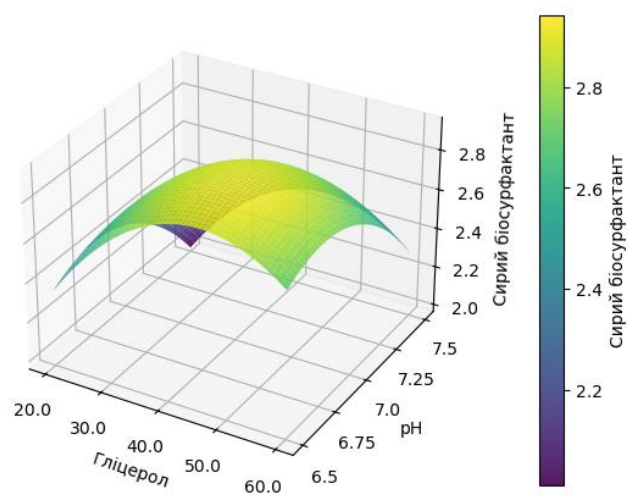
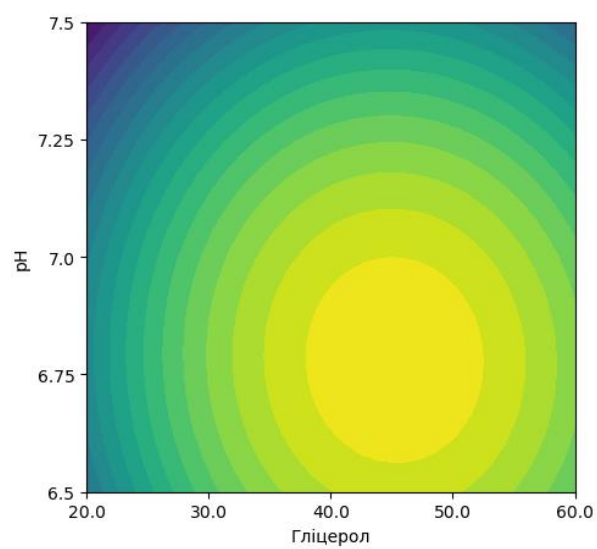
ДОДАТОК Г

Поверхні відгуку комбінацій факторів для моделі RSM









ДОДАТОК В

Код програми для RSM з врахуванням економічного ефекту

```
import os
import numpy as np
import pandas as pd
import matplotlib.pyplot as plt
from itertools import combinations
from pyDOE3 import ccdesign

import statsmodels.api as sm
from scipy.optimize import minimize
from statsmodels.formula.api import ols

# %%

def compute_cost(row):
    cost = 0
    cost += cost_per_unit['temperature'] * max(0, row['temperature'] - 25)
    cost += cost_per_unit['agitation'] * row['agitation']
    cost += cost_per_unit['yeast_extract'] * row['yeast_extract']
    cost += cost_per_unit['glycerol'] * row['glycerol']
    cost += cost_per_unit['pH'] * row['pH']
    return cost

def decode_value(x_coded, min_val, max_val):
    return round(x_coded * (max_val - min_val) / 2 + (min_val + max_val) / 2, 2)

def get_factor_labels(factor_ranges):
    min_val, mid_val, max_val = factor_ranges
    return [str(decode_value(x, min_val, max_val)) for x in ticks_range]

# %%

var_to_name_transformer = {
    'temperature': 'Температура',
    'agitation': 'Швидкість перемішування',
    'yeast_extract': 'Дріжджовий екстракт',
    'glycerol': 'Гліцерол',
    'pH': 'pH',
    'biosurf': 'Сирий біосурфактант'
}

name_to_var_transformer = {v: k for k, v in var_to_name_transformer.items()}

factor_levels = {
    'temperature': [25, 30, 35],
    'agitation': [200, 225, 250],
    'yeast_extract': [0, 4, 8],
    'glycerol': [20, 40, 60],
    'pH': [6.5, 7.0, 7.5]
}

factor_names = list(factor_levels.keys())

cost_per_unit = {
    'temperature': 0.84,      # грн/°C
    'agitation': 0.042,      # грн/об/хв
    'yeast_extract': 6.40,   # грн/грам
    'glycerol': 0.072,       # грн/грам
    'pH': 0.0,               # припускаємо, що регулювання pH не додає прямої вартості
}
```

```

# %%

np.random.seed(42)
cc_design = ccdesign(5, center=(0, 6), face='ccf')

ccd_coded_df = pd.DataFrame(cc_design, columns=factor_levels.keys())

# %%

df = pd.read_excel('exp_data_to_input.xlsx', index_col='N#')
df.columns = df.columns.map(name_to_var_transformer)

ccd_real_df = df.copy()

for factor, levels in factor_levels.items():
    ccd_real_df[factor] = ccd_real_df[factor].map({
        -1: levels[0],
        0: np.mean(levels),
        1: levels[2]
    })

df['cost'] = ccd_real_df[factor_names].apply(compute_cost, axis=1)

# %%

ticks_range = [-1, -0.5, 0, 0.5, 1]

factors = [f"Q('{f}')" for f in factor_names]

linear_part = " + ".join(factors)
interactions = " + ".join([f"{a}:{b}" for i, a in enumerate(factors) for b in factors[i+1:]]
quadratic = " + ".join([f"I({f}**2)" for f in factors])

# %%

target_name = 'biosurf'
formula = f"Q('{target_name}') ~ {linear_part} + {interactions} + {quadratic}"
model_biosurf = ols(formula, data=df[factor_names + [target_name]]).fit()
print(model_biosurf.summary())

zmin = df[target_name].min()
zmax = df[target_name].max()

for f1, f2 in list(combinations(factor_names, 2)):
    f1_vals = np.linspace(df[f1].min(), df[f1].max(), 50)
    f2_vals = np.linspace(df[f2].min(), df[f2].max(), 50)
    F1, F2 = np.meshgrid(f1_vals, f2_vals)

    fixed = {f: df[f].mean() for f in factor_names if f not in [f1, f2]}

    grid = pd.DataFrame({
        f1: F1.ravel(),
        f2: F2.ravel()
    })
    for f in fixed:
        grid[f] = fixed[f]

```

```

Z = model_biosurf.predict(grid).values.reshape(F1.shape)

fig = plt.figure(figsize=(12, 5))
gs = fig.add_gridspec(1, 3, width_ratios=[1, 1, 0.05])
ax1 = fig.add_subplot(gs[0, 0])
ax2 = fig.add_subplot(gs[0, 1], projection='3d')

contour = ax1.contourf(F1, F2, Z, cmap='viridis', levels=20)#, vmin=zmin, vmax=zmax)
ax1.set_xlabel(var_to_name_transformer[f1])
ax1.set_ylabel(var_to_name_transformer[f2])
ax1.set_xticks(ticks=ticks_range, labels=get_factor_labels(factor_levels[f1]))
ax1.set_yticks(ticks=ticks_range, labels=get_factor_labels(factor_levels[f2]))

surf = ax2.plot_surface(F1, F2, Z, cmap='viridis', alpha=0.9)#, vmin=zmin, vmax=zmax)
ax2.set_xlabel(var_to_name_transformer[f1])
ax2.set_ylabel(var_to_name_transformer[f2])
ax2.set_xticks(ticks=ticks_range, labels=get_factor_labels(factor_levels[f1]))
ax2.set_yticks(ticks=ticks_range, labels=get_factor_labels(factor_levels[f2]))
ax2.set_zlabel(var_to_name_transformer[target_name])

cbar_ax = fig.add_subplot(gs[0, 2])
cbar = fig.colorbar(surf, cax=cbar_ax)
cbar.set_label(var_to_name_transformer[target_name])

fixed_real_val = {
    f: decode_value(fixed[f], factor_levels[f][0], factor_levels[f][-1])
    for f in fixed
}

plt.show()

# %%

def objective_biosurf(x, model):
    df_pred = pd.DataFrame([
        'temperature': x[0],
        'agitation': x[1],
        'yeast_extract': x[2],
        'glycerol': x[3],
        'pH': x[4]
    ])
    return -model.predict(df_pred)[0]

x0 = np.zeros(5)

bounds = [(-1, 1)] * 5

result = minimize(objective_biosurf, x0, args=(model_biosurf,), bounds=bounds)

decoded_result = {
    'temperature': decode_value(result.x[0], 25, 35),
    'agitation': decode_value(result.x[1], 200, 250),
    'yeast_extract': decode_value(result.x[2], 0, 8),
    'glycerol': decode_value(result.x[3], 20, 60),
    'pH': decode_value(result.x[4], 6.5, 7.5),
    'Predicted biosurf': -result.fun,
}

```

```

decoded_result.update({
    'Calculated Cost': compute_cost(pd.Series(decoded_result))
})

for k, v in decoded_result.items():
    print(f"{k}: {round(v, 2)}")

# %%

biosurf_min = df['biosurf'].min()
biosurf_max = df['biosurf'].max()
cost_min = df['cost'].min()
cost_max = df['cost'].max()

def normalize_biosurf(y):
    return (y - biosurf_min) / (biosurf_max - biosurf_min)

def normalize_cost(c):
    return (cost_max - c) / (cost_max - cost_min)

def objective_multi(x, model_biosurf, alpha=0.5):
    df_pred = pd.DataFrame([
        'temperature': x[0],
        'agitation': x[1],
        'yeast_extract': x[2],
        'glycerol': x[3],
        'pH': x[4]
    ])
    y = model_biosurf.predict(df_pred)[0]

    decoded = {
        'temperature': decode_value(x[0], 25, 35),
        'agitation': decode_value(x[1], 200, 250),
        'yeast_extract': decode_value(x[2], 0, 8),
        'glycerol': decode_value(x[3], 20, 60),
        'pH': decode_value(x[4], 6.5, 7.5)
    }

    c = compute_cost(pd.Series(decoded))

    y_norm = normalize_biosurf(y)
    c_norm = normalize_cost(c)

    score = alpha * y_norm + (1 - alpha) * c_norm
    return -score

x0 = np.zeros(5)
bounds = [(-1, 1)] * 5

alpha = 0.5
res_multi = minimize(objective_multi, x0, args=(model_biosurf, alpha), bounds=bounds)

opt_conditions = {
    'temperature': decode_value(res_multi.x[0], 25, 35),
    'agitation': decode_value(res_multi.x[1], 200, 250),
    'yeast_extract': decode_value(res_multi.x[2], 0, 8),
    'glycerol': decode_value(res_multi.x[3], 20, 60),
    'pH': decode_value(res_multi.x[4], 6.5, 7.5)
}

```

```

}

df_pred_opt = pd.DataFrame([{
    'temperature': res_multi.x[0],
    'agitation': res_multi.x[1],
    'yeast_extract': res_multi.x[2],
    'glycerol': res_multi.x[3],
    'pH': res_multi.x[4]
}])

pred_y = model_biosurf.predict(df_pred_opt)[0]
pred_c = compute_cost(pd.Series(opt_conditions))

print("\nОптимальні умови (збалансована оптимізація):")
for k, v in opt_conditions.items():
    print(f"{k}: {round(v, 2)}")
print(f"Predicted biosurf: {round(pred_y, 2)}")
print(f"Predicted Cost: {round(pred_c, 2)}")

# %%

```

Код програми для Ridge-регресії

```
# %%

import os
import pandas as pd
import numpy as np
import matplotlib.pyplot as plt
from statsmodels.formula.api import ols
import statsmodels.api as sm
from sklearn.linear_model import Ridge
from sklearn.preprocessing import PolynomialFeatures, StandardScaler
from sklearn.pipeline import make_pipeline
from sklearn.metrics import r2_score
from scipy.optimize import minimize, differential_evolution
import itertools
from mpl_toolkits.mplot3d import Axes3D

# %%

df = pd.read_excel('exp_data_to_input.xlsx', index_col='№')
df.columns = df.columns.str.split(',').str[0]
factors = ["Гліцерол", "Натрій нітрат", "Натрій цитрат"]
X = df[factors].values
y_dict = {
    "АСБ": df["АСБ"].values,
    "РЛ": df["РЛ"].values,
    "ЕПС": df["ЕПС"].values
}
outputs = list(y_dict.keys())

ridge_models = {}
for name in outputs:
    model = make_pipeline(
        StandardScaler(),
        PolynomialFeatures(degree=2, include_bias=False),
        Ridge(alpha=1.0, fit_intercept=True))
    model.fit(X, y_dict[name])
    ridge_models[name] = model

def create_meshgrid(i, j, fixed_index, fixed_val, steps=40):
    x_range = np.linspace(df[factors[i]].min(), df[factors[i]].max(), steps)
    y_range = np.linspace(df[factors[j]].min(), df[factors[j]].max(), steps)
    xx, yy = np.meshgrid(x_range, y_range)
    X_grid = np.zeros((xx.size, 3))
    X_grid[:, i] = xx.ravel()
    X_grid[:, j] = yy.ravel()
    X_grid[:, fixed_index] = fixed_val
```

```

    return xx, yy, X_grid

for output_name in outputs:
    print(output_name)
    model = ridge_models[output_name]
    for i, j in itertools.combinations(range(3), 2):
        fixed_index = list({0, 1, 2} - {i, j})[0]
        fixed_val = df[factors[fixed_index]].mean()
        xx, yy, grid = create_meshgrid(i, j, fixed_index, fixed_val)
        zz = model.predict(grid).reshape(xx.shape)

        fig = plt.figure(figsize=(11, 5))

        ax1 = fig.add_axes([0.06, 0.15, 0.4, 0.75])
        contour = ax1.contourf(xx, yy, zz, levels=30, cmap='plasma')
        CS = ax1.contour(xx, yy, zz, levels=10, colors='black', linewidths=0.8)
        ax1.clabel(CS, inline=1, fontsize=8)
        ax1.scatter(df[factors[i]], df[factors[j]], color='red', marker='x', label='Эксперименти')
        ax1.set_xlabel(factors[i])
        ax1.set_ylabel(factors[j])
        ax1.legend()

        ax2 = fig.add_axes([0.5, 0.15, 0.4, 0.75], projection='3d')
        surf = ax2.plot_surface(xx, yy, zz, cmap='plasma', rstride=1, cstride=1,
                                linewidth=0, antialiased=True, alpha=0.95)
        ax2.scatter(df[factors[i]], df[factors[j]], df[output_name], color='red', marker='x')
        ax2.set_xlabel(factors[i])
        ax2.set_ylabel(factors[j])
        ax2.set_zlabel(output_name)

        cbar_ax = fig.add_axes([0.93, 0.25, 0.05, 0.5])
        cbar = fig.colorbar(surf, cax=cbar_ax)

    plt.show()

# %%

optima_ridge_de = {}

def objective(x):
    return -model.predict(np.array(x).reshape(1, -1))[0]

for output_name in outputs:
    model = ridge_models[output_name]

    bounds = [(df[f].min(), df[f].max()) for f in factors]

```

```

result = differential_evolution(objective, bounds, seed=42)

optima_ridge_de[output_name] = {
    "Гліцерол": result.x[0],
    "Натрій нітрат": result.x[1],
    "Натрій цитрат": result.x[2],
    "Прогнозований максимум": -result.fun
}

optima_df_ridge_de = pd.DataFrame(optima_ridge_de).T
print("Оптимальні умови для Ridge + differential_evolution:")
print(optima_df_ridge_de)

# %%

y_minmax = {
    name: (df[name].min(), df[name].max())
    for name in outputs
}

def linear_desirability(y, y_min, y_max):
    return np.clip((y - y_min) / (y_max - y_min), 0, 1)

def objective_weighted_linear(x, models, weights):
    desir_sum = 0
    for name in outputs:
        y_pred = models[name].predict(np.array(x).reshape(1, -1))[0]
        y_norm = linear_desirability(y_pred, *y_minmax[name])
        desir_sum += weights[name] * y_norm
    return -desir_sum

equal_weights = {name: 1.0 for name in outputs}

bounds = [(df[f].min(), df[f].max()) for f in factors]

x0 = np.array([(b[0] + b[1]) / 2 for b in bounds])

res = minimize(
    objective_weighted_linear,
    x0=x0,
    args=(ridge_models, equal_weights),
    bounds=bounds,
    method='L-BFGS-B'
)

x_opt = res.x

```



```

y_opt = {name: ridge_models[name].predict(x_opt.reshape(1, -1))[0] for name in outputs}

opt_weighted_result = {
    "Гліцерол": x_opt[0],
    "Натрій нітрат": x_opt[1],
    "Натрій цитрат": x_opt[2],
    "АСБ": y_opt["АСБ"],
    "РЛ": y_opt["РЛ"],
    "ЕПС": y_opt["ЕПС"]
}
opt_weighted_df = pd.DataFrame([opt_weighted_result])
opt_weighted_df

# %%

x_base = np.array([(b[0] + b[1]) / 2 for b in bounds])
y_base = {name: ridge_models[name].predict(x_base.reshape(1, -1))[0] for name in outputs}

report_rows = []
for name in outputs:
    base = y_base[name]
    opt = y_opt[name]
    improvement = opt - base
    percent = 100 * improvement / base
    report_rows.append({
        "Вихід": name,
        "Середній рівень": round(base, 3),
        "Оптимізований рівень": round(opt, 3),
        "Абсолютне покращення": round(improvement, 3),
        "Відносне покращення (%)": round(percent, 1)
    })

optimization_report_df = pd.DataFrame(report_rows)
print("\nЗвіт про оптимізацію (багатокритеріальна):")
print(optimization_report_df.to_string(index=False))

# %%

df_ols = df.copy()
df_ols.columns = df_ols.columns.str.replace(' ', '_')
factor_cols = [f.replace(' ', '_') for f in factors]
output_cols = [y.replace(' ', '_') for y in outputs]

scaler = StandardScaler()
df_ols[factor_cols] = scaler.fit_transform(df_ols[factor_cols])

```

```

for target_name in output_cols:
    factors_q = [f"Q('{f}')" for f in factor_cols]
    linear_part = " + ".join(factors_q)
    interactions = " + ".join([f"{a}:{b}" for i, a in enumerate(factors_q) for b in factors_q[i+1:]]
    quadratic = " + ".join([f"I({f}**2)" for f in factors_q])
    formula = f"Q('{target_name}') ~ {linear_part} + {interactions} + {quadratic}"

    model = ols(formula, data=df_ols[factor_cols + [target_name]]).fit()
    print(f"\n=== ANOVA для {target_name} ===")
    print(model.summary())

# %%

y_true_dict = {name: y_dict[name] for name in outputs}
y_pred_dict = {name: ridge_models[name].predict(X) for name in outputs}

fig, axes = plt.subplots(1, 3, figsize=(18, 5), sharex=False, sharey=False)

for idx, name in enumerate(outputs):
    y_true = y_true_dict[name]
    y_pred = y_pred_dict[name]
    ax = axes[idx]

    ax.scatter(y_true, y_pred, color='blue', alpha=0.8, marker='x')
    min_val = min(min(y_true), min(y_pred))
    max_val = max(max(y_true), max(y_pred))
    ax.plot([min_val, max_val], [min_val, max_val], '--', color='grey')

    ax.set_xlabel("Фактичні значення")
    ax.set_ylabel("Прогнозовані значення")
    ax.set_title(f"{name} (R² = {r2_score(y_true, y_pred):.2f})")
    ax.grid(True)

plt.tight_layout()
plt.show()

# %%

```

Код програми для GPR

```
# %%

import os
import numpy as np
import pandas as pd
import seaborn as sns
import matplotlib.pyplot as plt
from scipy.stats import norm
from scipy.optimize import minimize
from sklearn.gaussian_process import GaussianProcessRegressor
from sklearn.gaussian_process.kernels import Matern, WhiteKernel, ConstantKernel as C
from sklearn.preprocessing import StandardScaler
from sklearn.model_selection import LeaveOneOut
from sklearn.inspection import permutation_importance
from sklearn.pipeline import make_pipeline
from sklearn.metrics import mean_squared_error, r2_score
from mpl_toolkits.mplot3d import Axes3D

# %%

def normalize(y, y_min, y_max):
    return (y - y_min) / (y_max - y_min)

df = pd.read_excel('exp_data_to_input.xlsx', index_col='№')
df.columns = df.columns.str.split(',').str[0]

X = df[["Fructose", "NaNO3"]].values
y_biomass = df["Biomass"]
y_pha = df["PHA"].values

biomass_min, biomass_max = df["Biomass"].min(), df["Biomass"].max()
pha_min, pha_max = df["PHA"].min(), df["PHA"].max()

kernel = C(1.0, (1e-3, 1e3)) * Matern(length_scale=1.0, nu=2.5) + WhiteKernel()
gpr_biomass = make_pipeline(StandardScaler(), GaussianProcessRegressor(kernel=kernel,
n_restarts_optimizer=10, random_state=42))
gpr_pha = make_pipeline(StandardScaler(), GaussianProcessRegressor(kernel=kernel,
n_restarts_optimizer=10, random_state=42))

gpr_biomass.fit(X, y_biomass)
gpr_pha.fit(X, y_pha)

fructose_range = np.linspace(df["Fructose"].min(), df["Fructose"].max(), 50)
nitrate_range = np.linspace(df["NaNO3"].min(), df["NaNO3"].max(), 50)
F, N = np.meshgrid(fructose_range, nitrate_range)
X_pred = np.column_stack([F.ravel(), N.ravel()])
```

```

y_biomass_mean, y_biomass_std = gpr_biomass.named_steps['gaussianprocessregressor'].predict(
    gpr_biomass.named_steps['standardscaler'].transform(X_pred), return_std=True)
y_pha_mean, y_pha_std = gpr_pha.named_steps['gaussianprocessregressor'].predict(
    gpr_pha.named_steps['standardscaler'].transform(X_pred), return_std=True)

Z_biomass = y_biomass_mean.reshape(F.shape)
Z_pha = y_pha_mean.reshape(F.shape)

f_margin = (fructose_range.max() - fructose_range.min()) * 0.02
n_margin = (nitrate_range.max() - nitrate_range.min()) * 0.02

# %%

results = {}
for target in ["Biomass", "PHA"]:
    y = df[target].values
    loo = LeaveOneOut()
    y_true = list()
    y_pred = list()

    for train_index, test_index in loo.split(X):
        X_train, X_test = X[train_index], X[test_index]
        y_train, y_test = y[train_index], y[test_index]

        gpr = GaussianProcessRegressor(kernel=kernel, alpha=1e-6, n_restarts_optimizer=5,
normalize_y=True)
        gpr.fit(X_train, y_train)
        y_pred.append(gpr.predict(X_test)[0])
        y_true.append(y_test[0])

    y_true = np.array(y_true)
    y_pred = np.array(y_pred)
    rmse = np.sqrt(mean_squared_error(y_true, y_pred))
    r2 = r2_score(y_true, y_pred)

    results[target] = {
        "y_true": y_true,
        "y_pred": y_pred,
        "rmse": rmse,
        "r2": r2
    }

output = dataframe=pd.DataFrame({
    "R²": {k: f"{v['r2']:.3f}" for k, v in results.items()},
    "RMSE": {k: f"{v['rmse']:.3f}" for k, v in results.items()})

```

```

}))

print(output)

# %%

x_ticks = [30, 35, 40, 45, 50]
y_ticks = [0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5]

print('Biomass')
fig1 = plt.figure(figsize=(12, 5))

ax1 = fig1.add_axes([0.05, 0.15, 0.4, 0.75])
contour1 = ax1.contourf(F, N, Z_biomass, levels=20, cmap='viridis')
ax1.scatter(df["Fructose"], df["NaNO3"], c='red', label='Експерименти', marker='x')
ax1.set_xlabel("Fructose (g/L)")
ax1.set_ylabel("NaNO3 (g/L)")
ax1.set_xticks(x_ticks)
ax1.set_yticks(y_ticks)
ax1.legend()

ax2 = fig1.add_axes([0.49, 0.15, 0.4, 0.75], projection='3d')
surf1 = ax2.plot_surface(F, N, Z_biomass, cmap='viridis', alpha=0.9)
ax2.set_xlabel("Fructose")
ax2.set_ylabel("NaNO3")
ax2.set_zlabel("Biomass")
ax2.set_xticks(x_ticks)
ax2.set_yticks(y_ticks)

cbar_ax1 = fig1.add_axes([0.91, 0.25, 0.02, 0.5])
fig1.colorbar(surf1, cax=cbar_ax1)

plt.show()

# %%

print('PHA')
fig2 = plt.figure(figsize=(12, 5))

ax3 = fig2.add_axes([0.05, 0.15, 0.4, 0.75])
contour2 = ax3.contourf(F, N, Z_pha, levels=20, cmap='plasma')
ax3.scatter(df["Fructose"], df["NaNO3"], c='red', label='Експерименти', marker='x')
ax3.set_xlabel("Фруктоза")
ax3.set_ylabel("Натрій нітрат")
ax3.set_xticks(x_ticks)
ax3.set_yticks(y_ticks)

```

```

ax3.legend()

ax4 = fig2.add_axes([0.49, 0.15, 0.4, 0.75], projection='3d')
surf2 = ax4.plot_surface(F, N, Z_pha, cmap='plasma', alpha=0.9)
ax4.set_xlabel("Фруктоза")
ax4.set_ylabel("Натрій нітрат")
ax4.set_zlabel("ПГА")
ax4.set_xticks(x_ticks)
ax4.set_yticks(y_ticks)

cbar_ax2 = fig2.add_axes([0.91, 0.25, 0.02, 0.5])
fig2.colorbar(surf2, cax=cbar_ax2)

plt.show()

# %%

Z_biomass_std = y_biomass_std.reshape(F.shape)
Z_pha_std = y_pha_std.reshape(F.shape)

print('Biomass uncertainty:')
fig1 = plt.figure(figsize=(6, 5))
ax1 = fig1.add_axes([0.1, 0.15, 0.75, 0.75], projection='3d')
surf1 = ax1.plot_surface(F, N, Z_biomass_std, cmap='coolwarm', alpha=0.9)
ax1.set_xlabel("Фруктоза")
ax1.set_ylabel("Натрій нітрат")
ax1.set_zlabel("Невизначеність")
ax1.set_xticks(x_ticks)
ax1.set_yticks(y_ticks)

cbar_ax1 = fig1.add_axes([0.88, 0.25, 0.03, 0.5])
cbar1 = fig1.colorbar(surf1, cax=cbar_ax1)
cbar1.set_label("Стандартне відхилення")

plt.show()

# %%

print('PHA uncertainty:')
fig2 = plt.figure(figsize=(6, 5))
ax2 = fig2.add_axes([0.1, 0.15, 0.75, 0.75], projection='3d')
surf2 = ax2.plot_surface(F, N, Z_pha_std, cmap='coolwarm', alpha=0.9)
ax2.set_xlabel("Фруктоза")
ax2.set_ylabel("Натрій нітрат")
ax2.set_zlabel("Невизначеність")
ax2.set_xticks(x_ticks)

```

```

ax2.set_yticks(y_ticks)

cbar_ax2 = fig2.add_axes([0.88, 0.25, 0.03, 0.5])
cbar2 = fig2.colorbar(surf2, cax=cbar_ax2)
cbar2.set_label("Стандартне відхилення")

plt.show()

# %%

fructose_range = np.linspace(df["Fructose"].min(), df["Fructose"].max(), 100)
nitrate_fixed = np.full_like(fructose_range, df["NaNO3"].mean())
X_fructose = np.column_stack([fructose_range, nitrate_fixed])

nitrate_range = np.linspace(df["NaNO3"].min(), df["NaNO3"].max(), 100)
fructose_fixed = np.full_like(nitrate_range, df["Fructose"].mean())
X_nitrate = np.column_stack([fructose_fixed, nitrate_range])

y_biomass_fructose = gpr_biomass.predict(X_fructose)
y_biomass_nitrate = gpr_biomass.predict(X_nitrate)
y_pha_fructose = gpr_pha.predict(X_fructose)
y_pha_nitrate = gpr_pha.predict(X_nitrate)

fig, axs = plt.subplots(2, 2, figsize=(12, 8))

axs[0, 0].plot(fructose_range, y_biomass_fructose, label="Biomass")
axs[0, 0].set_xlabel("Фруктоза")
axs[0, 0].set_ylabel("Біомаса")
axs[0, 0].grid()

axs[0, 1].plot(nitrate_range, y_biomass_nitrate, label="Biomass", color='green')
axs[0, 1].set_xlabel("Натрій нітрат")
axs[0, 1].set_ylabel("Біомаса")
axs[0, 1].grid()

axs[1, 0].plot(fructose_range, y_pha_fructose, label="PHA", color='purple')
axs[1, 0].set_xlabel("Фруктоза")
axs[1, 0].set_ylabel("ПГА")
axs[1, 0].grid()

axs[1, 1].plot(nitrate_range, y_pha_nitrate, label="PHA", color='orange')
axs[1, 1].set_xlabel("Натрій нітрат")
axs[1, 1].set_ylabel("ПГА")
axs[1, 1].grid()

plt.tight_layout()

```

```

plt.show()

# %%

print('Biomass')
best_biomass = df["Biomass"].max()

mu_b = y_biomass_mean
sigma_b = y_biomass_std
with np.errstate(divide='warn'):
    Z_b = (mu_b - best_biomass) / sigma_b
    ei_biomass = (mu_b - best_biomass) * norm.cdf(Z_b) + sigma_b * norm.pdf(Z_b)
    ei_biomass[sigma_b == 0.0] = 0.0

Z_ei_biomass = ei_biomass.reshape(F.shape)

plt.figure(figsize=(6, 5))
cp = plt.contourf(F, N, Z_ei_biomass, levels=20, cmap='inferno')
plt.colorbar(cp, label="Expected Improvement")
plt.scatter(df["Fructose"], df["NaNO3"], c='white', edgecolors='black', label='Експерименти')
plt.xlabel("Фруктоза")
plt.ylabel("Натрій нітрат")
plt.legend()
plt.xlim(fructose_range.min() - f_margin, fructose_range.max() + f_margin)
plt.ylim(nitrate_range.min() - n_margin, nitrate_range.max() + n_margin)
plt.tight_layout()
plt.show()

# %%

print('PHA')
best_PHA = df["PHA"].max()

mu = y_pha_mean
sigma = y_pha_std
with np.errstate(divide='warn'):
    Z = (mu - best_PHA) / sigma
    ei = (mu - best_PHA) * norm.cdf(Z) + sigma * norm.pdf(Z)
    ei[sigma == 0.0] = 0.0

Z_ei = ei.reshape(F.shape)

plt.figure(figsize=(6, 5))
cp = plt.contourf(F, N, Z_ei, levels=20, cmap='inferno')
plt.colorbar(cp, label="Expected Improvement")
plt.scatter(df["Fructose"], df["NaNO3"], c='white', edgecolors='black', label='Експерименти')

```



```

plt.xlabel("Фруктоза")
plt.ylabel("Натрій нітрат")
plt.legend()
plt.xlim(fructose_range.min() - f_margin, fructose_range.max() + f_margin)
plt.ylim(nitrate_range.min() - n_margin, nitrate_range.max() + n_margin)
plt.tight_layout()
plt.show()

# %%

print('Biomass + PHA (Combined)')
ei_norm_biomass = normalize(ei_biomass, ei_biomass.min(), ei_biomass.max())
ei_norm_pha = normalize(ei, ei.min(), ei.max())

combined_ei = (ei_norm_biomass + ei_norm_pha) / 2
Z_combined_ei = combined_ei.reshape(F.shape)

plt.figure(figsize=(6, 5))
cp = plt.contourf(F, N, Z_combined_ei, levels=20, cmap='inferno')
plt.colorbar(cp, label="Expected Improvement")
plt.scatter(df["Fructose"], df["NaNO3"], c='white', edgecolors='black', label='Експерименти')
plt.xlabel("Фруктоза")
plt.ylabel("Натрій нітрат")
plt.legend()
plt.xlim(fructose_range.min() - f_margin, fructose_range.max() + f_margin)
plt.ylim(nitrate_range.min() - n_margin, nitrate_range.max() + n_margin)
plt.tight_layout()
plt.show()

# %%

biomass_norm = normalize(y_biomass_mean, biomass_min, biomass_max)
pha_norm = normalize(y_pha_mean, pha_min, pha_max)

combined_desirability = (biomass_norm + pha_norm) / 2
Z_combined = combined_desirability.reshape(F.shape)

plt.figure(figsize=(6, 5))
cp = plt.contourf(F, N, Z_combined, levels=20, cmap='YlGnBu')
plt.colorbar(cp, label="Об'єднаний показник бажаності")
plt.scatter(df["Fructose"], df["NaNO3"], c='red', label='Експерименти', marker='x')
plt.xlabel("Фруктоза")
plt.ylabel("Натрій нітрат")
plt.legend()
plt.xlim(fructose_range.min() - f_margin, fructose_range.max() + f_margin)
plt.ylim(nitrate_range.min() - n_margin, nitrate_range.max() + n_margin)

```

```

plt.tight_layout()
plt.show()

# %%

X_train = df[["Fructose", "NaNO3"]].values
imp_bio = permutation_importance(gpr_biomass, X_train, df["Biomass"], n_repeats=30, random_state=42)
imp_pha = permutation_importance(gpr_pha, X_train, df["PHA"], n_repeats=30, random_state=42)
importance_df = pd.DataFrame({
    "Biomass": imp_bio.importances_mean,
    "PHA": imp_pha.importances_mean
}, index=["Fructose", "NaNO3"])

plt.figure(figsize=(6, 3))
sns.heatmap(importance_df, annot=True, cmap='OrRd', cbar=False)
plt.title("Важливість факторів для GPR-моделей")
plt.tight_layout()
plt.show()

# %%

bounds = [(df["Fructose"].min(), df["Fructose"].max()),
          (df["NaNO3"].min(), df["NaNO3"].max())]

x0 = [df["Fructose"].mean(), df["NaNO3"].mean()]

def biomass_objective(x):
    y = gpr_biomass.predict(np.array(x).reshape(1, -1))[0]
    return -normalize(y, biomass_min, biomass_max)

def pha_objective(x):
    y = gpr_pha.predict(np.array(x).reshape(1, -1))[0]
    return -normalize(y, pha_min, pha_max)

res_biomass = minimize(biomass_objective, x0, bounds=bounds, method='L-BFGS-B')
opt_bio = res_biomass.x
pred_biomass_only = gpr_biomass.predict(opt_bio.reshape(1, -1))[0]
pred_pha_at_bio = gpr_pha.predict(opt_bio.reshape(1, -1))[0]

res_pha = minimize(pha_objective, x0, bounds=bounds, method='L-BFGS-B')
opt_pha = res_pha.x
pred_pha_only = gpr_pha.predict(opt_pha.reshape(1, -1))[0]
pred_biomass_at_pha = gpr_biomass.predict(opt_pha.reshape(1, -1))[0]

{
    "Оптимізація лише біомаси": {

```

```

        "Фруктоза (г/л)": round(opt_bio[0], 2),
        "Натрій нітрат (г/л)": round(opt_bio[1], 2),
        "Біомаса (г/л)": round(pred_biomass_only, 2),
        "ПГА при цих умовах (г/л)": round(pred_pha_at_bio, 2)
    },
    "Оптимізація лише РНА": {
        "Фруктоза (г/л)": round(opt_pha[0], 2),
        "Натрій нітрат (г/л)": round(opt_pha[1], 2),
        "ПГА (г/л)": round(pred_pha_only, 2),
        "Біомаса при цих умовах (г/л)": round(pred_biomass_at_pha, 2)
    }
}

# %%

def combined_desirability_function(x):
    x_arr = np.array(x).reshape(1, -1)
    y_b = gpr_biomass.predict(x_arr)[0]
    y_p = gpr_pha.predict(x_arr)[0]

    y_b_norm = normalize(y_b, biomass_min, biomass_max)
    y_p_norm = normalize(y_p, pha_min, pha_max)

    return -(y_b_norm + y_p_norm) / 2

result = minimize(combined_desirability_function, x0, bounds=bounds, method='L-BFGS-B')

opt_fructose, opt_nano3 = result.x
pred_biomass = gpr_biomass.predict(np.array([[opt_fructose, opt_nano3]]))[0]
pred_pha = gpr_pha.predict(np.array([[opt_fructose, opt_nano3]]))[0]

{
    "Оптимальна концентрація Фруктози (г/л)": round(opt_fructose, 2),
    "Оптимальна концентрація Натрій нітрату (г/л)": round(opt_nano3, 2),
    "Прогнозована біомаса (г/л)": round(pred_biomass, 2),
    "Прогнозований вихід ПГА (г/л)": round(pred_pha, 2),
    "Значення об'єднаної desirability-функції": round(-result.fun, 3)
}

# %%

print('Biomass')
upper_biomass = y_biomass_mean + 1.96 * y_biomass_std
lower_biomass = y_biomass_mean - 1.96 * y_biomass_std

plt.figure(figsize=(6, 5))

```

```

contour = plt.contourf(F, N, (upper_biomass - lower_biomass).reshape(F.shape), levels=30,
cmap='YlGnBu')
plt.scatter(df["Fructose"], df["NaNO3"], c='red', label='Експерименти', marker='x')
plt.xlabel("Фруктоза")
plt.ylabel("Натрій нітрат")
plt.colorbar(contour, label="Ширина довірчого інтервалу")
plt.xlim(fructose_range.min() - f_margin, fructose_range.max() + f_margin)
plt.ylim(nitrate_range.min() - n_margin, nitrate_range.max() + n_margin)
plt.legend()
plt.tight_layout()
plt.show()

# %%

print('PHA')
upper_pha = y_pha_mean + 1.96 * y_pha_std
lower_pha = y_pha_mean - 1.96 * y_pha_std

plt.figure(figsize=(6, 5))
contour = plt.contourf(F, N, (upper_pha - lower_pha).reshape(F.shape), levels=30, cmap='YlGnBu')
plt.scatter(df["Fructose"], df["NaNO3"], c='red', label='Експерименти', marker='x')
plt.xlabel("Фруктоза")
plt.ylabel("Натрій нітрат")
plt.colorbar(contour, label="Ширина довірчого інтервалу")
plt.xlim(fructose_range.min() - f_margin, fructose_range.max() + f_margin)
plt.ylim(nitrate_range.min() - n_margin, nitrate_range.max() + n_margin)
plt.legend()
plt.tight_layout()
plt.show()

# %%

```