

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

Факультет фармацевтичних технологій та менеджменту

(повне найменування інституту, назва факультету (відділення))

Кафедра біотехнології

(повна назва кафедри (предметної, циклової комісії))

ВИПУСКНА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему: **Організація виробництва ферменту ПЕТази для
деградації ПЕТ-пластику**

**Organization of production of PETase enzyme for degradation of
PET plastic**

Виконав : здобувач вищої освіти 4 курсу, групи
БТ619(3,10д)

спеціальності 162 Біотехнології та біоінженерія
(шифр і назва спеціальності)

Біотехнологія

(назва освітньої програми)

Микита КОНОНОВ

(Ім'я, ПРІЗВИЩЕ)

Керівник Доцент закладу вищої освіти кафедри
біотехнології, к.фарм.н, доцент Ольга КАЛЮЖНАЯ
(посада, науковий ступінь, вчене звання, Ім'я, ПРІЗВИЩЕ)

Рецензент Доцент закладу вищої освіти кафедри
технологій фармацевтичних препаратів, к.фарм.н,
доцент Олександр МАНСЬКИЙ

(посада, науковий ступінь, вчене звання, Ім'я, ПРІЗВИЩЕ)

Харків – 2023 рік

АНОТАЦІЯ

У роботі розглянуті проблеми забруднення навколишнього середовища та шляхи їхнього вирішення, серед яких перспективним є застосування ферменту ПЕТази. Організація виробництва фермента ПЕТази є темою кваліфікаційної роботи, яка складається зі вступу, десяти розділів, графічних матеріалів, висновку та списку використаної літератури із 40 найменувань. Загальний обсяг роботи – 100 сторінок, 25 рисунків, 21 таблиць, 4 креслень формату А1.

Ключові слова: пластикові відходи, біодеградація, ПЕТаза.

ANNOTATION

The paper examines the problems of environmental pollution and ways to solve them, among which the application of PETase enzyme is promising. The organization of PETase enzyme production is the subject of a qualification work, which consists of an introduction, ten chapters, graphic materials, a conclusion and a list of used literature from 40 titles. The total volume of work is 100 pages, 25 figures, 21 tables, 4 A1 format drawings.

Key words: plastic waste, biodegradation, PETase.

[illegible]

ЗМІСТ

Вступ.....	3
1 Маркетингові дослідження.....	5
2 Аналітичний огляд.....	11
3 Характеристика готового продукту, сировини, матеріалів, напівпродуктів.....	27
4 Технологічні розрахунки.....	39
5 Схеми виробництва та опис технологічного процесу.....	61
6 Контроль якості виробництва	73
7 Автоматизація технологічного процесу	78
8 Забезпечення якості виробництва	81
9 План цеху із компонуванням обладнання.....	85
10 Економічна частина.....	86
Висновок.....	94
Література.....	96
.	

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

ВСТУП

Актуальність. Пластмаси - це синтетичні полімери, отримані з викопної нафти та значною мірою стійкі до біологічного розкладання. Поліетилен (ПЕ, polyethylene, PE) і поліпропілен (ПП, polypropylene, PP) становлять приблизно 92 % від загального виробництва пластику. ПЕ значною мірою використовується в упаковці, що становить близько 40 % загального попиту на пластикові вироби, причому щороку використовується понад трильйон пластикових пакетів [1].

За останні 50 років виробництво пластику зросло в геометричній прогресії. За лічені десятиріччя від початку пластикової промисловості людство виробило приблизно 9 млрд тонн цього матеріалу. У 27 країнах ЄС, а також у Норвегії та Швейцарії до 38 % пластику викидається на звалищах, а решта використовується для вторинної переробки (26 %) та відновлення енергії (36 %) шляхом спалювання, несучи суттєвий негативний вплив на навколишнє середовище. В Україні вторинній переробці підлягає лише 12,5 % полімерних матеріалів. Це робить актуальним застосування нових рішень для деградації пластику. Такими рішеннями є використання каталізуючих можливостей ферменту ПЕТази, отримання якої наразі вивчено на основі штамів *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Streptomyces*, *Brevibacterium*, *Nocardia*, *Moraxella*, *Penicillium* і *Aspergillus*, виділених з природних джерел - з ґрунту, моря та мулу. Але поточні дослідження показали, що найкращими продуцентами є бактерії роду *Ideonella sakaiensis*, виділені у 2016 р. японськими вченими у ході скринінгу зразків ґрунту, води та мулу, взятих з місця переробки пляшок, що складаються з ПЕТ. Також, перспективні результати показали дослідження розпочаті у 2017 р. щодо використання для біодеградації пластикових відходів личинок великої воскової молі роду *Galleria mellonella*.

Мета роботи – аналіз технологій біодеградації пластику та організація

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

виробництва ферменту ПЕТази, використання якої при переробці пластику є однією із ефективних стратегій вирішення проблеми забруднення екосистем відходами пластикових виробів.

Завдання для досягнення поставленої мети наступні:

- розглянути способи утилізації пластику в світі та Україні;
- охарактеризувати організми, що здатні до біодеградації пластикових виробів;
- описати процес біодеградації полімерних матеріалів ферментом ПЕТазою та мікроорганізми – продуценти даного ферменту;
- розробити біологічну, технологічну, апаратурну схеми виробництва фермента ПЕТази повним біотехнологічним циклом на основі обраного продуцента – бактерії *Ideonella sakaiensis*;
- обґрунтувати вибір обладнання для реалізації процесу виробництва фермента ПЕТази на основі виробничих потужностей вітчизняного підприємства, що здійснює випуск біологічно-активних речовин повним біотехнологічним циклом;
- скласти план цеху виробництва фермента ПЕТази із урахуванням виробничих потужностей обраного підприємства;
- провести техніко-економічні розрахунки проєкту виробництва фермента ПЕТази.

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

1 МАРКЕТИНГОВІ ДОСЛІДЖЕННЯ

1.1 Проблеми формування сміттєпереробного бізнесу в Україні

Сміттєпереробний бізнес в Україні перебуває на початковому етапі формування. Про необхідність стратегії розвитку сміттєпереробній галузі говорять давно, але перші кроки на цьому шляху були зроблені у 2018 р. з прийняттям Закону України «Про відходи» та наступними кроками щодо обмеження використання пластикових виробів. Трагедія на Грибовицькому сміттєзвалищі біля Львова у 2019 р., подальше її закриття, і до сих пір невирішена проблема вивозу Львівського сміття, в черговий раз показали всю гостроту проблеми утилізації відходів. Крім цього, через російську агресію Україна зазнала величезних екологічних збитків, тож переробка шкідливих відходів нині стала питанням національної ваги.

На сьогоднішній день, за різними підрахунками від 4 % до 7 % території України займають сміттєзвалища. Тобто більше 40 тис. кв. км. в Україні – завалені відходами і в найближчі 300 років, земля не буде придатна для сільськогосподарської діяльності, лісопосадок і т.д. Згідно з даними Держкомстату, щорічно в Україні виробляється понад 350 млн тонн відходів, з яких переробляється або спалюється до 5 %, таким чином загальна кількість сміття в нашій країні становить вже понад 12 млрд. тонн.

У розвинених країнах сміттєпереробка є прибутковим бізнесом. Наприклад тонна очищеного пластика коштує близько 1000 євро, з огляду на що 50-60 % твердих побутових відходів становить саме він, сфера здається дуже привабливою для інвесторів. Вторсировину переробляють в електроенергію і тепло, з відходів деревини роблять пелети, якими можна опалювати приміщення, пластик переробляють в гранули і роблять корпуси для побутової техніки, іграшок, труби, і інші пластикові вироби, особливою

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

популярністю пластикова вторсировина користується у власників 3D принтерів. Лідером по переробці сміття є Швеція з показником у 99 % сміття, що переробляється, це виявилось настільки вигідно, що ця країна почала імпорт відходів з інших держав.

В Україні на переробку відправляється всього 4 % відходів. На території нашої країни працює 17 підприємств переробки макулатури, 35 з переробки пластику і ще 27 займаються склобоек. При цьому дані компанії завантажені лише на 40 %, і як не дивно сировину вони імпортують, щоб довантажити потужності. Причиною тому є 2 чинника:

В Україні викинути сміття дешевше, ніж переробити. Станом на кінець 2015 року, для комерційних структур ціна на викид сміття становила 16 грн за кв.м., а тариф на утилізацію – 53 грн за кв.м., при цьому тонна готового до переробки пластику коштує всього 5000 грн, ось і виходить, що комерційної вигоди в переробці немає.

Другий фактор – це відсутність культури поділу побутових відходів. Складно уявити собі 2 сміттєвих відра на українській кухні. Експерименти з установкою кольорових контейнерів для різних типів сміття, себе не виправдали, люди викидають в них все в перемішку, та й такі контейнери є менш ніж в 400 населених пунктах України. Крім того, для вивезення роздільного сміття, потрібно як мінімум дві машини, одна для харчових відходів, інша для твердих побутових відходів, і далеко не всі перевізники можуть собі це дозволити.

Чиновники визнають, що ситуація зі сміттям в Україні критична, і останні роки ведеться активна розробка правових актів, що посилюють регулювання поведінки з відходами, а також введення додаткового податку на екологію, підприємствам виробляють пластик, тару, фольгу і т.д. У сфері сміттєпереробного бізнесу також намітилися позитивні зміни. Так, компанія ТММ, веде переговори з київською владою, про будівництво сміттєпереробного заводу в межах міста, у Вінниці в рамках проекту

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

державно-приватного партнерства побудовані 12 газозбиральних свердловин на звалищах, встановлена когенераційна установка потужністю 710 кВт / год, за допомогою якої виробляється електроенергія.

На жаль, такі приклади поки що поодинокі, але при правильному державному регулюванні і вільному доступі компаній на цей ринок, перспективи розвитку сміттєпереробного бізнесу в Україні – колосальні.

1.2 Перспективність інвестицій у галузь переробки пластику в Україні

За лічені десятиріччя від початку пластикової промисловості людство виробило приблизно 9 млрд тонн цього матеріалу.

З них 9 % було перероблено, а 12 % спалено. Решта досі лежить на поверхні планети й плаває в морях та океанах. Але ж це сировина, яку частково можна повертати у виробництво, вона має вартість і може приносити інвесторам прибутки.

Загалом тепер у світі переробляють 20 % пластику, у Європейському Союзі – 42 %, а от в Україні - лише 12,5 %.

Рада ЄС 2019 року ухвалила Директиву, що впроваджує з 2021 року на території Європейського Союзу низку обмежень і заборон щодо використання деяких виробів з пластику, зокрема пластикового кухонного приладдя, ватних паличок, чашок з пінополістиролу тощо.

До 2029 року країни-члени ЄС будуть зобов'язані збирати 90 % пластикових пляшок для вторинного перероблення, до того ж їх виготовлятимуть з використанням 25 % вторинних матеріалів 2025-го й 30 % - 2030 року.

Однак дедалі більше європейських країн вимагають від виробників пакування використовувати в продукції до третини перероблених полімерів.

Зважаючи на це, варто очікувати, що невдовзі ринок перероблення вторинних пластмас у Європі почне стрімко розвиватися.

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

Жива природа функціонує за циклічною моделлю. Сміттєзвалищ немає - лише нескінченний обіг матеріалів, колообіг ресурсів та енергії.

Організми споживають ресурси, а їхні відходи й побічні продукти, що стають їжею чи будматеріалами для інших організмів, безпечно повертаються в довкілля.

Людство робить, здавалося б, те саме: споживає й викидає. За одним винятком - наші сучасні високотехнологічні відходи не здатні повернутися в природний обіг. Тож ми повинні вчитися їх використовувати - повертати в обіг промисловий.

Більшість видів пластмас можна переробити на вторинну гранулу, яку використовуватимуть надалі у виробництві широкого спектру продуктів. Виробництво вторинної гранули не тільки потребує менше витрат грошей і часу, ніж виробництво первинної гранули, а й заощаджує невідновні первинні викопні ресурси.

Така нова економіка пластику, де його використовують повторно, уже в пріоритетах 20 урядів, 250 компаній та понад 200 некомерційних інституцій, що підтримали 2018 року глобальну ініціативу фонду Еллен Мак-Артур «Нова економіка пластику».

Нещодавно було опубліковано другий звіт про прогрес у досягненні цілей на 2025 рік. Найуспішнішою є реалізація двох цілей: додати перероблені матеріали до пластикового пакування й поступово відмовитися від найпроблемніших категорій пластику: PS, PVC, одноразових пакетів і соломинок.

Меншого прогресу досягли в збільшенні обсягів перероблення й повторного використання пластику. Для досягнення цілей зобов'язання потрібна активна діяльність усіх учасників: як на рівні бізнесу, так і на рівні держав та міжнародних організацій.

Світові тенденції свідчать, що протягом найближчих 7-8 років ринок перероблення пластмас зростатиме на 6,6 % за валовим доходом і на 8,8 % за

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

обсягом. Це означає, що позитивні перспективи є, зокрема й для українських переробних підприємств.

В Україні, окрім глобальних трендів, утворилися й власні передумови розвитку такого бізнесу. Наша країна шукає підхожі механізми поводження з побутовим сміттям, серед яких, зокрема, впровадження розширеної відповідальності виробника.

У разі застосування на практиці цієї ініціативи виробники відповідатимуть за утилізацію виробленої продукції в кінці її життєвого циклу. Також поступово зростає рівень роздільного збирання побутових відходів серед населення.

З іншого боку, ще наприкінці 2019 р. в Україні діяли менш ніж чотири десятки переробних підприємств. Тож середовище, на нашу думку, поки лишається низькоконкурентним.

Інвестування від 2 млн доларів можуть отримати проекти, що, по-перше, переробляють увесь термопластик на готову продукцію або проміжну сировину, як-от флекси, гранули, волокно.

По-друге, уже працюють на час отримання фінансування, тобто мають EBITDA (Earnings before Interest, Taxes, Depreciation and Amortization - аналітичний показник, що дорівнює обсягу прибутку до вирахування витрат за відсотками, сплати податків та амортизаційних відрахувань) щонайменше 2 млн доларів і капіталовкладення в засоби виробництва від 2 млн доларів на рік.

Світлі перспективи не означають, що тернистого шляху немає. Вартість виготовлення пластику з первинних ресурсів досі лишається низькою через, зокрема, привабливість цін на нафту, а отже, конкурує з пластиком із вторинної сировини.

Відсутність розвиненого роздільного збирання й достатньої кількості сортувальних станцій також стримують розвиток перероблення.

Проте так триватиме недовго. І річ не тільки в тому, що дедалі більша

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

кількість підприємців усвідомлює свою відповідальність за довкілля й прагне будувати сталий бізнес та економіку сталого розвитку в країні.

У найближчі десятиліття вартість природних ресурсів зростатиме. Тож хочемо чи ні, а вторинна сировина набуватиме дедалі більшого значення для промисловості.

До того ж проблема зі сміттєзвалищами насправді є проблемою майбутніх поколінь. Вони точно не тішитимуться такому «подарунку» від предків, тому щороку нормативне регулювання поводження з відходами ставатиме дедалі жорсткішим у всьому світі.

З огляду на це стає зрозуміло: ті, хто почне бізнес з перероблення полімерних відходів сьогодні, матиме конкурентні переваги завтра. А зміни, що вже почалися, створюють передумови розширення виробничих потужностей українських підприємств і виходу на світовий ринок переробленого пластику.

1.3 Вітчизнянні підприємства з переробки відходів

Багато українських компаній усвідомлюють небезпеку пластикових відходів для довкілля. На сьогодні в Україні функціонує близько 35 підприємств з переробки пластикових відходів. Дехто з них переробляє пластмасу понад 10 років. Ці компанії виготовляють з нього матеріали для тканин, мішки та навіть пластикові панелі для меблів та інтер'єру.

Українська компанія *The Good Plastic Company* виготовляє з переробленого пластику панелі – матеріал для виробництва меблів та облицювання стін, предметів інтер'єру.

Вага одного квадратного метру панелі - до 20 кілограмів. Наприклад, панелі пощею 100 квадратних метрів – це 2 тонни вторинного пластику.

Станом на вересень 2021 року компанія вже утилізувала близько 70 тонн пластикових відходів. Фірма виготовляє панелі не лише для українських споживачів, а й продає їх за кордоном. Їхніми клієнтами стали такі

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

європейські компанії, як Nike, Adidas, McDonald's, Ikea та інші.

Екологічний матеріал українського виробника використовують для оформлення магазинів такі європейські компанії, як Nike, Adidas та інші. Водночас McDonalds будує перший ресторан в Англії, облицьований панелями Good Plastic. Навіть Ikea використовувала цей матеріал для оформлення шоу-румів у Лондоні, який позиціонується як найбільш екологічний у світі. Окрім того, у Норвегії закупають зроблені з нього стільниці для шкільних парт, а американський модний бренд Coach вирізає ручки для ексклюзивних сумок.



Рис. 1.1 – Приклади панелей з перероблених пластикових відходів компанії The Good Plastic Company

Корпорація з виробництва напоїв «Оболонь» переробляє пластик з 2002 р. Компанія переробляє близько 2,5 мільйона ПЕТ-пляшок щомісяця.

З моменту встановлення лінії переробки ПЕТ в Олександрії у 2002 р. на першому етапі процес полягав у подрібненні пляшок на так званий «флекс» (маленькі частинки) і його реалізації на експорт. У 2008 р. «Оболонь» придбала німецьке обладнання потужністю 125 кг/год, яке виготовляє зі 100 % вторинного флексу кріпильно-пакувальну стрічку. Таким чином ця

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

лінія не тільки дозволяє переробляти відходи ПЕТ без шкідливого впливу на навколишнє середовище, а й випускати кінцевий продукт - бандажну стрічку, який надалі використовується при пакуванні та перевезенні різноманітних вантажів. Її використовують як для власних потреб компанії, так і продають на внутрішньому ринку.

Крім безпосередньо переробки полімерних відходів, програма передбачає також залучення власних корпоративних структур, торгових партнерів і представників громад до збору вторинної ПЕТ-тари. На всіх підприємствах корпорації були виготовлені і встановлені контейнери для збору пляшок і дрібної макулатури у регіонах розташування заводів «Оболоні».

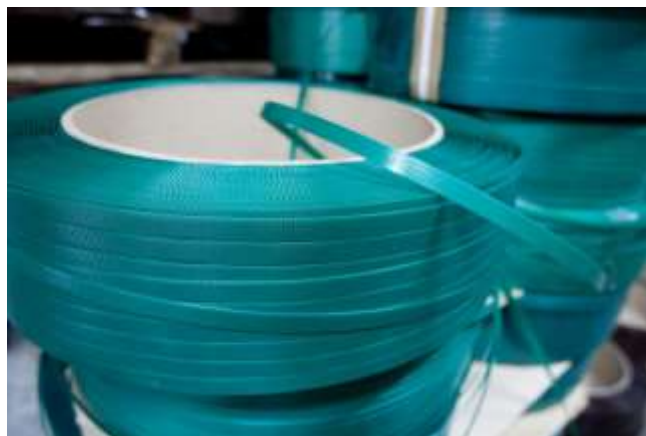


Рис. 1.2 – Бандажна стрічка, що виробляється компанією «Оболонь» із пластикових відходів

Харківська компанія *Greenstep* приймає та закуповує вторинну сировину з пластику й полімерів з усієї України.

Підприємство має повний виробничий цикл: від переробки ПЕТ-тари до виробництва поліефірного волокна та випуску готової продукції, що дає можливість формувати оптимальні та конкурентоспроможні ціни.

Найсучасніше обладнання та прогресивна система менеджменту дозволяє компанії виробляти продукцію відповідно до сучасних європейських стандартів.

Серед товарів з переробленої пластмаси:

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

- синтепон, шерстепон, синтепух, мікропух, термовойлок;
- поліефірне волокно;
- холлофайбер з первинної і вторинної сировини;
- стьобана тканина – двостороння й одностороння;
- мішки з місткістю вантажу до 2 тонн;
- вторинна пластикова гранула в різних кольорах.



Рис. 1.3 – Вироби компанії Greenstep із перероблених пластикових відходів: синтепон, холофайбер, матрац

Компанія «ПлазмаТек» реалізовує проекти з переробки техногенних та побутових відходів. Крім основного виду діяльності - виробництва зварювальних матеріалів, компанія розробила технологію переробки суміші пластику, поліетилену та інших полімерів з відходів.

Технологія дозволяє переробляти як звичайне сміття, так і відходи картонно-паперових комбінатів. Продукт переробки можна використовувати, як напівфабрикат для виробництва піддонів, ящиків, люків, терасної дошки, черепиці та інших будівельних матеріалів.

Наразі на власних потужностях компанія виготовила технологічну лінію з продуктивністю 400 кг переробленої сировини на годину. Плануються промислові випробування на конвеєрному виробництві та масштабування проекту.

На базі компанії у Вінниці заснований R&D центр, який об'єднує

власну професійну команду, компетенції українських науково-дослідних інститутів та компаній-партнерів. За рахунок такої співпраці створюються інноваційні розробки і нові технологічні рішення з екологічним підходом до виробництва.

На жаль, неефективна система сортування побутових відходів і відсутність державної підтримки суттєво гальмують розвиток сектору переробки вторинних матеріалів. Відтак, поки що, це лишається виключно добровільною ініціативою соціально відповідального бізнесу. Звісно, власними силами виробники не можуть «закрити» цю проблему, тому, перш за все, необхідно підвищувати загальну екологічну свідомість людей, популяризувати та заохочувати роздільне сортування сміття та принципи відповідального поводження з відходами.

Таким чином, галузі переробки відходів, зокрема пластикових, є перспективною з точки зору інвестицій та соціальної відповідальності. Тому пошук та застосування нових технологій та стратегій деградації пластикових відходів є актуальною задачею, зокрема для фахівців біотехнологів. Слід відмітити, що серед близько 35 функціонуючих в Україні підприємств з переробки пластикових відходів, жодне не використовує досягнення біотехнологій, що дозволить зробити цю галузь ефективнішою та енергоощаднішою. Тому розробка нових технологій та стратегій з переробки пластикових відходів дозволить розширити перспективи існуючих компаній та відкрити нові підприємства з переробки.

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

2 АНАЛІТИЧНИЙ ОГЛЯД

2.1 Проблеми та напрямки утилізації відходів з пластику

Одним з найбільш відчутних результатів антропогенної діяльності є утворення відходів. Раціональне поводження з відходами, зокрема із пластиковими відходами, набуває важливого значення в економічному та екологічному відношенні.

Відходи термопластів поділяються на:

- відходи технологічного виробництва, що утворюються під час синтезу та переробки пластмас та компонентів, від 7 до 30 % (за вагою). За властивостями вони мало чим відрізняються від сировини і можуть бути перероблені в суміші з вихідним матеріалом;
- відходи промислового споживання, що накопичуються в результаті руйнування полімерних виробів. Ці відходи досить однорідні і можуть бути перероблені у продукти;
- державні відходи, що накопичуються на звалищах внаслідок морального або фізичного зносу полімерних деталей. Частка громадських відходів становить 55 % від усіх полімерних відходів. Поховані на звалищах, пластмаси не розкладаються і завдають ґрунтам великої шкоди.

Послуги з переробки пластмас - сукупність процесів отримання продуктів або напівфабрикатів із заданими властивостями на спеціальному обладнанні.

Методи переробки пластикових відходів поділяються на дві групи: фізико-хімічні та механічні.

Альтернативним способом переробки пластмас є спалення. При спалюванні пластикових відходів виділяється дим з частинками розміром від 0,5 до 10, летючі забруднювачі, такі як оксиди металів, діоксини, і утворюється зола, що містить важкі метали.

Механічні методи переробки пластикових відходів для їх вторинного

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

використання полягають у подрібненні різних пластичних речовин. Під час такої обробки утворюються крихти та порошкоподібні матеріали, які піддаються литтєвому формуванню.

Переробка пластмас за допомогою фізико-хімічних методів може здійснюватися одним із наступних методів:

- руйнування (в результаті отримані олігомери та мономери використовуються у виробництві волокон та плівок);
- повторне плавлення (спосіб дозволяє виготовляти гранули за допомогою технології лиття під тиском або технології екструзії);
- повторне осадження з розчинів (метод застосовується у виробництві композиційних матеріалів, порошків, що застосовуються для нанесення полімерних покриттів);
- хімічна модифікація (метод дозволяє виготовляти матеріали з новими фізико-хімічними властивостями).

Найпоширенішим є метод переплавлення, тобто метод грануляції або таблетування. На першому етапі відходи сортуються за зовнішнім виглядом (відокремлені непластичні компоненти). Далі, в результаті одно- або двоступеневого подрібнення матеріал досягає розмірів, необхідних для його подальшої обробки. На наступному етапі подрібнений матеріал промивають від забруднень, а неметалеві домішки відокремлюють. Наступний етап залежить від обраного способу поділу відходів за типом пластику. При мокрому способі спочатку проводять поділ, а потім сушку. При використанні сухих методів - спочатку сушіння, а потім класифікація. Завершальним етапом процесу використання відходів є переробка гранулятів у продукти.

У процесі вторинного використання пластмас необхідно запобігти або зменшити погіршення їх фізико-механічних і реологічних властивостей. З цією метою в композиції на основі вторинних полімерних матеріалів вводять додаткові стабілізатори, що дозволяє зберегти їх експлуатаційні характеристики. Технологічна схема регенерації пластмасових відходів, що

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

містять до 10 % каучуку, металу, скла та інших матеріалів, представлена на рис. 2.1.

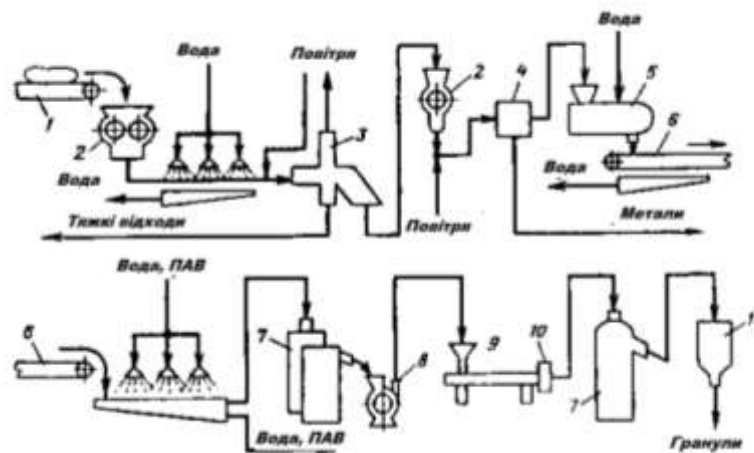


Рис. 2.1 - Схема регенерації пластмасових відходів: 1 - конвеєр для подачі мішків; 2 - дробарки; 3 - повітряний класифікатор; 4 - магнітний сепаратор; 5 - промивач; 6 - конвеєр; 7 - відцентрові сушарки; 8 - млин; 9 - екструдер; 10 - таблетована пристрій; 11 - бункер для таблеток

Відходи конвеєром подають на дробарку 2. Далі їх промивають і пневматичним транспортом направляють в повітряний класифікатор 3, де відділяється близько 3 % важких відходів. Далі відходи додатково подрібнюють в дробарці другого ступеня і продувають через магнітний сепаратор 4 для видалення залишилися металів. Подрібнені відходи промивають, сушать у відцентровій сушарці 7. Висушені відходи перемішують в турбінній млині 8 для запобігання грудкування і подають в екструдер 9, де за допомогою таблетована пристрої 10 матеріал перетворюється в таблетки.

Основними способами переробки пластмас є:

- піроліз (термічний розпад відбувається при високих температурах за відсутності кисню);
- гідроліз (розкладання екстремальними температурами та тиском);

- гліколіз (руйнування, що відбувається при високому тиску і температурі в присутності каталізатора та етиленгліколю для отримання екологічно чистого продукту);

- метаноліз (розщеплення метанолом).

Під час термічної обробки пластик, що підлягає переробці, не вимагає попереднього ретельного сортування та очищення. Продуктами переробки пластмас шляхом піролізу є сухий залишок, піролізний газ, котельне паливо. Під час цього процесу тверді речовини перетворюються на гарячий газ, який може використовуватися для отримання тепла, і в рідину - мазут. Основним недоліком процесу піролізу є утворення шкідливих хімічних сполук. Щоб вони не потрапляли в атмосферу, необхідно використовувати досить складні системи фільтрації та очищення, що негативно позначається на прибутковості цього методу. Вторинний пластик можна використовувати для різних цілей. Так, із нього виготовляють синтетичні нитки, з яких згодом можна виготовити одяг, килими, плівки та інші вироби. Близько двох третин всього вторинного європейського пластику використовується для виготовлення поліестеру, який використовується як ізоляція для спортивного одягу, спальних мішків та наповнювача для м'яких іграшок. Також із вторинного пластику можна зробити і упаковку.

2.2 Біодеградація полімерних матеріалів

Біодеградація - руйнування складних речовин, матеріалів, продуктів в результаті життєдіяльності живих організмів, а саме під дією мікроорганізмів, грибків, водоростей. Цей процес є основним механізмом знищення людських відходів. Це стосується і промислових відходів. Органічні відходи та більшість неорганічних, за винятком радіоактивних речовин, піддаються біодеградації. Цей процес є основним механізмом протидії екосистем антропогенним факторам. Швидкість біодеградації визначається типом задіяних організмів, умовами (температурою, вологістю),

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

освітленістю та багатьма іншими факторами. Прикладом використання людиною процесу біодеградації є отримання біогазу, оскільки продуктом метаболізму організмів, які вступають у цей процес, є – метан.

Біодеградацію іноді називають поверхневим розкладанням, яке змінює механічні, фізичні та хімічні властивості матеріалу. Цей процес відбувається, коли матеріал зазнає впливу абіотичних факторів навколишнього середовища, і дозволяє подальше розкладання, послаблюючи структуру матеріалу. Деякі абіотичні фактори, що впливають на ці початкові зміни, - це компресія (механічна), світло, температура та хімічні речовини в навколишньому середовищі.

Хоча біодеградація зазвичай відбувається на першій стадії, в деяких випадках вона може відбуватися паралельно з біофрагментацією. Розкладання матеріалів мікроорганізмами у присутності кисню - це аеробне бродіння, а розкладання матеріалів за відсутності кисню - анаеробне бродіння. Основна відмінність між цими процесами полягає в тому, що анаеробні реакції виробляють метан, а аеробні - ні (проте обидві реакції утворюють вуглекислий газ, воду, деякі залишки та нову біомасу). Крім того, аеробне бродіння зазвичай відбувається швидше, ніж анаеробне бродіння, тоді як анаеробне бродіння краще зменшує об'єм і вагу матеріалу. Завдяки здатності анаеробного травлення зменшувати об'єм та масу відходів та виробляти природний газ, технологія анаеробного травлення широко використовується в системах поводження з відходами та як джерело місцевої відновлюваної енергії. На стадії асиміляції продукти біофрагментації інтегруються в мікробні клітини. Деякі продукти фрагментації легко транспортуються всередину клітини мембранними транспортерами. Однак іншим все ще доводиться проходити реакції біотрансформації, щоб отримати продукти, які потім можна транспортувати всередину клітини. Потрапляючи в клітину, продукти потрапляють у катаболічний шлях, який веде або до вироблення аденозинтрифосфату (АТФ), або до елементів клітини.

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

На процес біодеградації може впливати безліч факторів. На практиці майже всі хімічні сполуки та матеріали піддаються процесам біодеградації. Однак відносна швидкість таких процесів, таких як дні, тижні, роки чи століття, є важливою. Ряд факторів визначає швидкість розкладання органічних сполук.

До факторів належать світло, вода, кисень і температура. Швидкість розкладання багатьох органічних сполук обмежена їх біодоступністю, тобто швидкістю, з якою речовина всмоктується в систему або стає доступною в місці фізіологічної активності, оскільки сполуки повинні потрапляти в розчин, перш ніж організми зможуть їх розкласти. Швидкість біодеградації можна виміряти кількома способами. Респірометричні тести можна використовувати для аеробних мікробів. Спочатку помістіть зразок твердих відходів у ємність з мікроорганізмами та ґрунтом, а потім суміш провітрюють. Протягом декількох днів мікроорганізми поступово перетравлюють зразок і виробляють вуглекислий газ - отримана кількість CO₂ є показником розкладання. Ступінь біологічного розкладу також можна виміряти анаеробними бактеріями та кількістю метану або сплаву, який вони здатні виробляти.

Важливо відзначити фактори, що впливають на швидкість біологічного розкладання під час випробування продукції, щоб результати були точними та надійними. Деякі матеріали будуть перевірені як біологічно розкладаються в оптимальних умовах в лабораторії для затвердження, але ці результати можуть не відображати фактичні результати, фактори яких є більш мінливими. Таким чином, дуже важливо мати стандарти на пластикові біологічно розкладаються продукти, що мають значний вплив на навколишнє середовище. Розробка та використання точних стандартних методів випробувань може допомогти гарантувати, що вся пластмаса, що виробляється та продається, справді може біорозкладатися в природному середовищі.

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

Пластмаси піддаються біологічному розкладанню з дуже змінною швидкістю. Сантехніка на основі ПВХ обрана для роботи зі стічними водами, оскільки ПВХ стійкий до біологічного розкладання. З іншого боку, розробляються деякі пакувальні матеріали, які легко руйнуються навколишнім середовищем. Приклади швидко розкладаються синтетичних полімерів включають полікапролактон, інші складні складні ефіри та ароматично-аліфатичні ефіри, оскільки їх складні ефірні зв'язки чутливі до води. Яскравим прикладом є полі-3-гідроксибутират, відновлювальна полімолочна кислота. Інші - це ацетат целюлози на основі целюлози та целулоїд (нітрат целюлози). В умовах низького вмісту кисню пластмаси руйнуються повільніше. У спеціально розробленій купі компосту процес розкладання можна прискорити. Пластмаса на основі крохмалю розкладається протягом двох-чотирьох місяців у домашньому резервуарі для компоста, тоді як полімолочна кислота істотно не розкладається, що вимагає більш високих температур. Полікапролактон і полікапролактон-крохмальний композити розкладаються повільніше, але вміст крохмалю прискорює розкладання, залишаючи пористий полікапролактон з великою площею поверхні. Однак це займає багато місяців. Термін "компостування" часто використовується неофіційно для опису біодеградації пакувальних матеріалів.

Європейський Союз пропонує чотири критерії:

-Хімічний склад: леткі речовини і важкі метали, а також фтор повинні бути обмежені.

-Рівень біорозкладання: перетворення > 92% вихідного матеріалу в CO₂, воду і мінерали в результаті біологічних процесів протягом 6 місяців.

-Рівень розпаданья: не менше 92% початкової маси має бути розкладено на частинки, які можуть пройти через сито 2х2 мм.

-Якість: відсутність токсичних речовин і інших речовин, що перешкоджають компостування.

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

Полімери, що підлягають біорозкладанню діляться на три групи:

- медичні,
- екологічні подвійного призначення, а за походженням вони

поділяються на дві групи:

- натуральні
- синтетичні.

Можна відзначити низку груп матеріалів, стійких до біодеградації в біологічному середовищі або, навпаки, розпадаються з тією чи іншою швидкістю:

- об'єкти, які повинні тривалий час бути стійкими в умовах експлуатації в контакті з агресивним біологічним середовищем (поверхні, стійкі до біопшкоджень, імплантати з тривалим перебуванням в організмі);
- предмети, які функціонують протягом тривалого часу, але як можна швидше розкладаються в біологічному середовищі після використання;
- Об'єкти, які руйнуються з контрольованою швидкістю.

У переважній більшості випадків процес біодеградації спостерігається в полімерних продуктах. Він рідше зустрічається у виробах з неорганічних матеріалів (спеціальні види скла та кераміки, призначені для медичного використання), ще рідше - у металевих виробах, що входять до складу медичних виробів. Для випадку біологічного розкладу продукту в навколишньому середовищі біологічним середовищем є ґрунт, системи компостування, вода різних водойм, тобто водні системи, які, крім інших речовин, містять різні мікроорганізми, характерні для цього середовища (наприклад, ґрунтові бактерії, гриби, мікроскопічні водорості тощо).

Найважливіший процес біологічного розкладу стосується деяких типів імплантатів (наприклад, кріплень, кісткових пломб, швів), ряду лікарських форм (наприклад, таблеток, капсул, мікрокапсул), субстратів, що використовуються в тканинній інженерії, а також упаковки продуктів, які повинні бути знищені після використання, що важливо з точки зору екології.

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

Біологічним середовищем в цих випадках служать кров, лімфа, міжклітинна рідина, інші рідкі середовища організму, наприклад, шлунковий сік, сік підшлункової залози, слина і т.д. Тобто водні системи, що містять різні неорганічні і органічні речовини, в тому числі ферменти, а також різні типи клітин. Біодеградація є результатом ряду фізичних, хімічних і біохімічних процесів, що протікають за участю ферментів. Процес біодеградації має певні особливості для різних об'єктів.

Біодеградація полімерного матеріалу може протікати:

- в поверхневому шарі – зовнішньої дифузно-кінетичній області, тобто в шарі, дифузно-доступному для рідкого навколишнього середовища. При цьому властивості матеріалу, в тому числі молекулярна маса полімеру, за межами цієї області не змінюються до руйнування зовнішнього шару. Такий процес призводить до біоерозії поверхні об'єкта, тобто появи на ній нерівностей, западин і т.д.

- в обсязі полімерного виробу, коли швидкість проникнення рідкої біологічного середовища в масу виробу перевищує швидкість розпаду полімеру. Наприклад, при високому ступені набухання виробу в біологічному середовищі, коли проникнення факторів, що сприяють біотрансформації, в тому числі ферментів, полегшено.

Перший з цих механізмів зустрічається найбільш часто. На біодеградацію матеріалу в цьому випадку, крім хімічного будови полімеру, впливають такі чинники, як форма виробу, розмір, наявність перфорації, ступінь пористості, наявність наповнювача і т.д. Контакт рідкої біологічного середовища з поверхнею виробу, а отже, з макромолекулами полімеру, з якого він виготовлений, в разі відповідного хімічної будови і структури полімеру викликає початок перебігу процесу біодеградації. Ця стадія біодеградації проходить без участі клітин (некліткова біодеградація). Одними з факторів, що мають великий вплив на стійкість полімеру до біодеградації, виступають його здатність до сорбції води і інтенсивність дифузії до

навколишнього водного середовища. Проникнення водних розчинів в масу або в поверхневі шари виробу, піддається біодеградації, є необхідною стадією, самі по собі високі значення здатності матеріалу до сорбції води і дифузії водяної пари не гарантують високої швидкості цього процесу. Так, вироби з полісілоксанів для яких характерний високий коефіцієнт дифузії водяної пари, що не схильні до біодеградації.

Помірна швидкість біологічного розкладу продукту (і внаслідок гідролізу бічних ефірних груп полімеру) спостерігається для продуктів, виготовлених з полі- (2-гідроксиетил) метакрилату, який має високу сорбцію води. З іншого боку, продукти, виготовлені з таких полімерів, як полігідроксикарбонові кислоти (полігліколід та полілактид), широко використовувані для створення біологічно розкладається упаковки та імплантатів, характеризуються відносно помірними значеннями сорбції та дифузії. Як правило, полімери, здатні розкладатися в біологічних середовищах, мають вищу спорідненість до води завдяки наявності полярних груп. Однак неполярні або низькополярні полімери (полівуглеводні, кремнійорганічні та галогенвмісні вуглецеві полімери) не піддаються біологічному розкладанню в організмі. Таким чином, для перебігу біодеградації необхідне поєднання певних характеристик полімеру, насамперед особливостей будови та структури, забезпечують проникнення в полімер рідких середовищ та наявність функціональних груп, здатних до гідролізу. Для біодеградації продукту необхідна наявність інших факторів, насамперед здатності полімеру, з якого виготовлений продукт, розчинятися у воді та вступати в хімічні процеси, що супроводжуються розкладанням головного ланцюга з утворенням водорозчинного розкладання продукції.

Коли об'єкт, що зазнає впливу біологічного середовища, безпосередньо входить в процес біологічного розкладання, останній може бути результатом ряду хімічних, фізико-хімічних та біохімічних процесів, які включають:

- Розчинення в біологічному середовищі хімічно незмінного полімеру.

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

Ці процеси відбуваються у випадках, коли біорозкладаний об'єкт виготовлений з водорозчинного полімеру;

- Розчинення в біологічному середовищі продуктів хімічних та біохімічних реакцій, що зазнають матеріалу, з якого він виготовлений (складається), з біологічно розкладаного об'єкта, тобто продуктів, що утворюються в результаті процесів зміни хімічної структури матеріалу.

Гідролітичне розкладання полімерного ланцюга:

- Гідроліз груп, що містяться в полімерному ланцюзі;
- Гідроліз груп, що утворюються в полімерному ланцюзі після попередніх хімічних реакцій.

Утворення водорозчинних продуктів в результаті витоків в полімерних реакціях, які не впливають на довжину полімерного ланцюга. Утворення водорозчинного полімеру в результаті реакцій, в результаті яких утворюються ліофілізуючі групи, що сприяють його розчиненню;

- Знищення полімерно-полімерних комплексів.

Просте руйнування (розчинення) об'єкта спостерігається, коли він виготовлений з матеріалу, розчинного в біологічному середовищі. У цьому випадку його біодеградація може відбуватися без будь-яких хімічних перетворень матеріалу. Що стосується полімерів, такі матеріали не повинні мати просторову структуру і повинні містити в основному ланцюгу або в бічних гілках полярних функціональних груп, які забезпечують розчинність полімеру у водних середовищах. Розчинення матеріалу імплантату відбувається згідно етапів, добре вивчених для звичайного розчинення полімеру - дифузія середовища в полімерну масу, сольватація макромолекул полімеру молекулами розчинника (в даному випадку - водою) та десорбція сольватованих макромолекул з маси до розчину.

Розчинення супроводжується зміною надмолекулярної структури полімеру, співвідношенням аморфної та кристалічної областей тощо структурними змінами. Тенденцію матеріалу, такого як полімер, до

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

розчинення можна регулювати введенням різних функціональних груп. для синтетичних полімерів такими функціональними групами є гідроксильні (-OH), карбоксилатні (-COOH +), амідні (-CONH₂) та заміщені амідні групи (-CO-NHR та -CONR₂). Ці групи вводяться в полімер для надання йому розчинності у воді у вигляді бічних груп відповідних ланок високомолекулярного ланцюга. Такі полімери в більшості випадків включають гомо- та кополімери вінілового спирту, акриламід, N-вінілпіролідону, солі акрилових кислот, N- (2-гідроксипропіл) -метакриламід, акриламід, алкіл та діалкіл-заміщений акриламід. Розчинність у воді також мають полімери, що містять у ланцюзі групу аліфатичних ефірів, таких як поліетиленоксид. водорозчинні продукти можна отримати, використовуючи в якості матеріалів для їх виготовлення також природні полімери - глобулярні білки (альбуміни), низькомолекулярні фракції фібрилярних білків (желатин), а також деякі полісахариди (декстран, солі альгінової кислоти та карбоксиметилцелюлоза, крохмаль). У більшості випадків водорозчинні полімери використовуються для створення біорозкладаних лікарських форм, що руйнуються в організмі, та для виготовлення деяких пакувальних продуктів. Процеси зміни хімічної структури матеріалу під дією біологічних середовищ поєднуються поняттям біотрансформації (біореакції). Окремим випадком біотрансформації є біодеградація (відноситься до високомолекулярних систем) - хімічне розкладання основного ланцюга полімеру, що супроводжується зменшенням його молекулярної маси. Існує ряд напрямків розпаду полімеру в результаті біотрансформації, серед яких - розпад основного ланцюга лінійних полімерів, реакції в бічних гілках при збереженні основного ланцюга, розпад просторових полімерних структур із збереженням полімерних фрагментів, повний розпад просторових полімерів. У переважній більшості випадків, щоб біодеградація відбувалася в основному ланцюгу, повинні міститися функціональні групи, здатні до гідролізу. Найчастіше в якості гідролізованих груп виступають складні

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

складні ефіри, карбонати, аміди, ангідриди, уретани, сечовина, семікарбазиди та ін. ліпіди, пептиди, білки. Слід зазначити, що швидкість хімічного та ферментативного гідролізу цих груп значною мірою залежить від структури радикалів, з якими вони пов'язані. Тому, наприклад, вироби з поліетилентерефталату, складна ефірна група якого утворена аліфатичним спиртом (етиленгліколь) та ароматичною кислотою (терефталевою кислотою), біологічно розкладаються в організмі повільно, і цей полімер широко використовується для виготовлення імплантатів для тривалої функції в організмі. конструкції ендопротезів клапанів серця та ін.). З іншого боку, полімери гідроксикарбонових кислот (полігліколід, полілактид, полі-3-гідроксибутират), ефірна група яких знаходиться між аліфатичними фрагментами полімерного ланцюга, розкладаються за участю хімічного та ферментативного гідролізу.

У деяких випадках вуглецеві полімери також піддаються розкладанню під дією біологічних середовищ. Це може бути пов'язано з різноманітністю полімерів, що відбувається на стадії синтезу, коли основний ланцюг є гідролізуються групами. Наприклад, така ситуація трапляється у випадку з полівініловим спиртом, коли при радикальній полімеризації вінілацетату в результаті перенесення ланцюга до метильної групи мономеру частина його молекул реагує аномально, в результаті чого основний ланцюг включає складну ефірну групу. Це зменшує ступінь полімеризації полімеру при гідролітичному виробництві полівінілового спирту з полівінілацетату.

З іншого боку, розпад основного ланцюга вуглецевих полімерів у біологічних середовищах може відбуватися іншими механізмами. Таким чином, для деяких полімерів, які безпосередньо не містять гідролізуються групи в основному ланцюзі, його біодеградація може відбуватися після попереднього перетворення інших груп, присутніх в полімері, в результаті чого на ланцюзі з'являються фрагменти, здатні до гідролізу. Зокрема, продукти з полівінілового спирту можуть біологічно розкладатися при

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

імплантації в живі тканини або при впливі мікроорганізмів за участю ряду ферментів. У цих випадках розпад полімерного ланцюга протікає через стадію утворення дикетонів структур. Вуглецеві полімери, такі як ефіри полі- α -ціаноакрилової кислоти, які зазнають біологічного розкладу в організмі, також піддаються біодеградації в організмі.

1.3 Використання біологічних об'єктів для утилізації пластику

Як вже було відмічено вище, пластикові полімери мають такі переваги, як пластичність, довговічність і низька вартість, що обумовлює їхнє широке розповсюдження у всіх сферах людської діяльності. Проте забруднення пластиком становить серйозну загрозу навколишньому середовищу, здоров'ю тварин і людей. Мікропластик викликає особливе занепокоєння, оскільки мікропластик осідає у водному середовищі, а мікропластик, який проковтують морські птахи чи риби, накопичується в їхніх шлунках, що може спричинити смерть. Крім того, потенційне накопичення мікропластику в харчовому ланцюзі зрештою може мати негативний вплив на здоров'я людини.

Спалювання, захоронення та переробка пластикових відходів є дорогими та можуть спричинити вторинне забруднення. Розвиток біорозкладаної пластмаси в останні роки може уповільнити накопичення пластмаси в навколишньому середовищі, але не може повністю усунути забруднення навколишнього середовища.

Біодеградація, екологічно чистий метод розкладання, - це процес, за допомогою якого органічні матеріали розкладаються або розщеплюються на менші сполуки, включаючи CO_2 і H_2O , під дією мікроорганізмів. Процес біодеградації можна розділити на чотири етапи:

- клітини міцно ростуть на поверхні пластикового матеріалу та утворюють гідрофільні групи;
- довголанцюгові вуглеводні окислюються або гідролізуються в короткі

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

ланцюги ферментами, що виробляються мікробною популяцією, і утворюється новий агрегований зв'язок;

- коротколанцюгові полімери далі розщеплюються на жирні кислоти;
- жирні кислоти окислюються і розкладаються на H_2O , CO_2 і гумус.

Дослідження біодеградації пластикових полімерів зростають. Поліетилен, найбільш широко використовуваний пластиковий полімер, є синтетичним полімером високої молекулярної маси, що містить структуру лінійного насиченого вуглеводню, який може бути виражений як $-[CH_2-CH_2]_n-$. Попит на ПЕ становив близько 30 % від загального обсягу пластикових полімерів, а річне світове виробництво ПЕ становить приблизно 140 мільйонів тонн.

З початку 1970-х років дослідники досліджували біодеградацію ПЕ та виявили певні штами, що розкладають ПЕ, у тому числі *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Streptomyces*, *Brevibacterium*, *Nocardia*, *Moraxella*, *Penicillium* та *Aspergillus* з ґрунту, моря та мулу. Однак сильна гідрофобність, висока енергія хімічного зв'язку та висока молекулярна маса ПЕ перешкоджають його ефективній деградації більшістю штамів, особливо протягом короткого періоду часу. Показано, що деградація ПЕ грибами *Penicillium simplicissimum* і *Nocardia asteroides* може тривати кілька місяців і навіть більше. У 2017 р. Yang Jun та ін. повідомили, що ПЕ може бути розщеплено мікроорганізмами *Enterobacter asburiae* YT1 та *Bacillus sp.* YP1, які були виділені з індійської борошнистої молі. Після 60-денної інкубації приблизно 6 % і 11 % поліетиленової плівки було розщеплено YT1 і YP1 відповідно. Ці результати вказують на те, що комахи можуть бути перспективним джерелом для отримання мікроорганізмів, що розкладають ПЕ. Так само Паоло Бомбеллі та ін. виявили, що відбулася втрата маси 92 мг поліетиленової сумки для покупок після впливу ~100 воскових черв'яків, а етиленгліколь утворювався протягом 12 годин. Тим не менш, необхідні подальші дослідження для ідентифікації конкретних

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

мікроорганізмів, які відіграють ключову роль у деградації ПЕ.

Також перспективні результати в утилізації пластикових виробів показали: *Ideonella sakaiensis*, *Aspergillus tubingensis*, апендикулярія та мікроорганізми, виділені з личинок великої воскової молі роду *Galleria mellonella*.

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

3 ХАРАКТЕРИСТИКА ГОТОВОГО ПРОДУКТУ, СИРОВИНИ, МАТЕРІАЛІВ, НАПІВПРОДУКТУ

3.1 Характеристика готового продукту

Об'єктом даної роботи є фермент ПЕТаза, яка може стати одним з варіантів вирішення проблеми забруднення пластиковими відходами.

ПЕТази є класом ферментів естераз, які каталізують гідроліз поліетилентерефталатного (ПЕТ) пластику до мономерного моно-2-гідроксіетилтерефталату (МНЕТ).

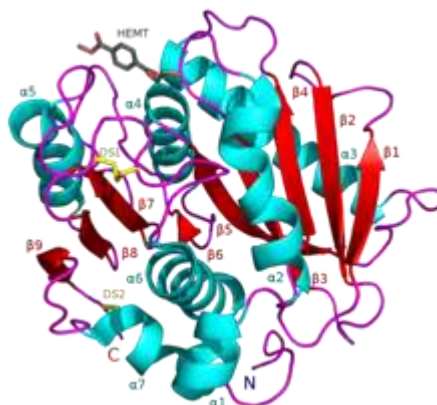
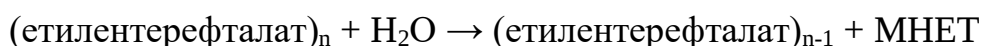


Рис. 3.1 - ПЕТаза *Ideonella sakaiensis* у комплексі з НЕМТ, аналогом ПЕТ

Ідеалізована хімічна реакція (де n - кількість мономерів у полімерному ланцюгу):



Залишковий ПЕТ розпадається на біс (2-гідроксіетил) терефталат (ВНЕТ). ПЕТази також можуть руйнувати ПЕФ-пластик (поліетилен-2,5-фурандікарбоксилат), який є біорозкладною заміною ПЕТ. ПЕТази не можуть каталізувати гідроліз аліфатичних поліефірів, таких як полібутиленсукцинат або полімолочна кислота.

Неферментативне природне розкладання ПЕТ займе сотні років, але ПЕТази можуть розкласти дрібнодисперсний ПЕТ-пластик за лічені дні

Перша ПЕТаза була виявлена у 2016 році у бактеріях штаму 201-F6 *Ideonella sakaiensis*, виявлених у зразках осаду, зібраних неподалік японського підприємства з переробки ПЕТ-пляшок. До цього відкриття були відомі інші типи гідролаз, що розкладають ПЕТ. До них відносяться такі гідролази, як ліпази, естерази та кутінази. Відкриття ферментів, що розкладають полієфір, датуються 1975 (α -хімотрипсин) і 1977 (ліпаза).

ПЕТ-пластик набув широкого поширення у 1970-х роках, і було висловлено припущення, що ПЕТази у бактеріях з'явилися лише недавно. У минулому ПЕТаза могла мати ферментативну активність, пов'язану з руйнуванням воскового покриття рослин.

Станом на квітень 2019 року було відомо 17 тривимірних кристалічних структур ПЕТаз.

ПЕТаза має загальні якості, як з ліпазами, так і з кутіназами в тому, що вона має α/β -гідролазну складку; тим не менш, ущелина активного центру, що спостерігається в ПЕТазі, більш відкрита, ніж у кутіназах.

Існує приблизно 69 ферментів, подібних до ПЕТази, знайдених у багатьох різних організмів, і існує дві класифікації цих ферментів, включаючи тип I і тип II. Передбачається, що 57 ферментів відносяться до категорії I типу, тоді як інші відносяться до групи II типу, включаючи фермент ПЕТази, виявленого у *Ideonella sakaiensis*. У всіх 69 ферментах, подібних до ПЕТази, існують одні і ті ж три залишки в активному центрі, що дозволяє припустити, що каталітичний механізм однаковий для всіх форм ферментів, подібних до ПЕТази.

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

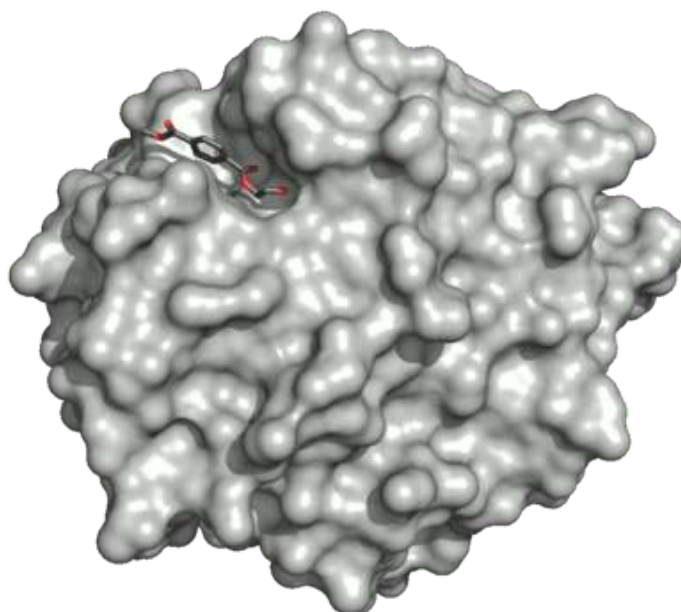


Рис. 3.2 - Поверхня подвійного мутанта петази (R103G і S131A) з НЕМТ (1-(2-гідроксіетил) 4-метилтерефталатом), пов'язаного з його активним сайтом. НЕМТ є аналогом MHET та містить додатковий естерифікований метанол. PDBID: 5XH3.

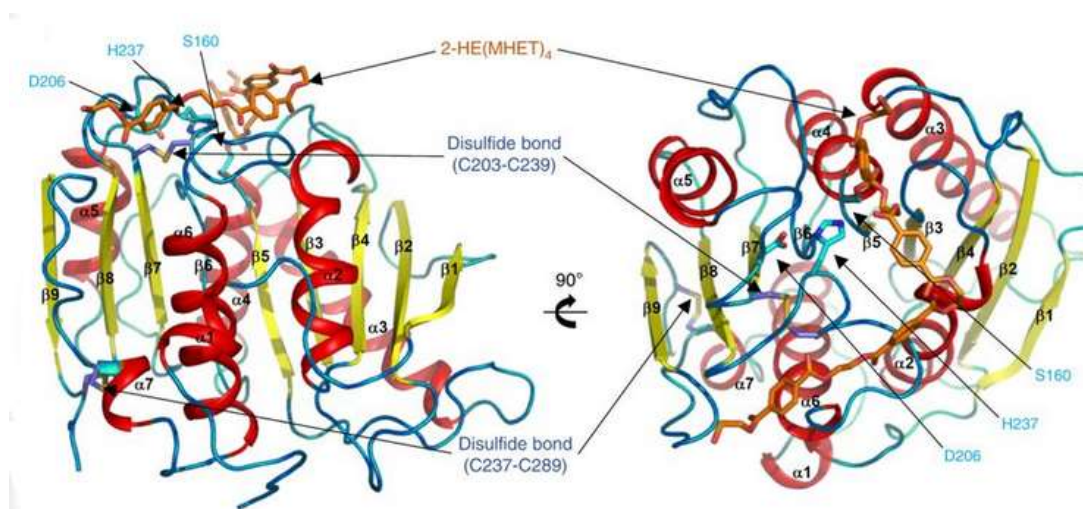


Рис. 3.3 - Стрічкова діаграма ПЕТази з трьома залишками Ser160, Asp206 та His237. Каталітична тріада представлена паличками блакитного кольору. Активний сайт показаний помаранчевим кольором для подання стимуляції молекулою 2-HE(MHET)

У 2018 році вчені з Портсмутського університету у співпраці з

Національною лабораторією відновлюваних джерел енергії Міністерства енергетики США розробили мутант ПЕТази, який розкладає ПЕТ швидше, ніж той, що знаходиться в природному стані. У цьому дослідженні також було показано, що ПЕТази можуть руйнувати поліетилен-2,5-фурандікарбоксилат (ПЕФ).

У *I. sakaiensis* утворюваний МНЕТ додатково розщеплюється під дією ферменту МНЕТази на терефталеву кислоту та етиленгліколь. Лабораторні експерименти показали, що химерні білки, які штучно пов'язують МНЕТазу та ПЕТазу, перевершують аналогічні суміші вільних ферментів.

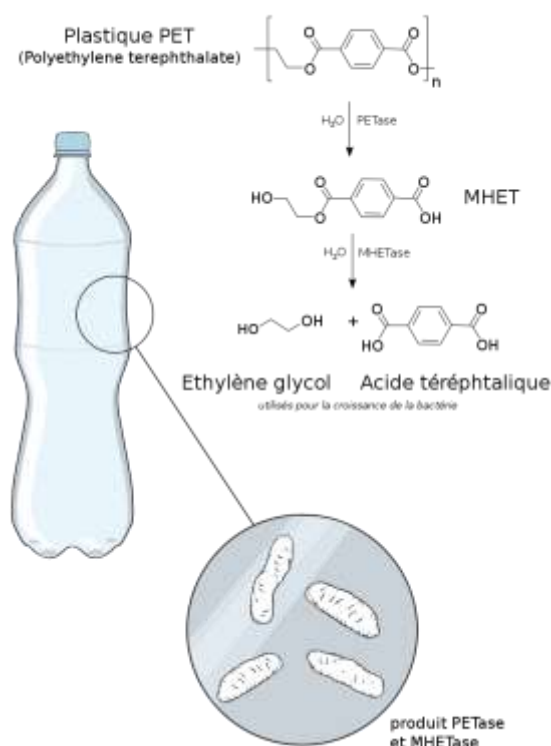


Рис. 3.4 - Шлях реакції ПЕТази та МНЕТази

3.2 Характеристика сировини та матеріалів

Біологічним об'єктом даної роботи є бактерія *Ideonella sakaiensis* 201-F6, яку пропонується використовувати як продуцент фермента ПЕТази.

Вирощування бактерії в промислових умовах потребує етапу масштабування:

1. пересів на пробірки з твердим середовищем,
2. у колби з рідким середовищем,
3. в інокулятор із рідким середовищем для нарощування біомаси та
4. у ферментер із рідким середовищем для нарощування біомаси та утворення ферменту.

За даним літератури оптимальними середовищами:

- для етапу 1 є агар NBRC 802 складу, г/л:

поліпептон - 10,

дріжджовий екстракт - 2,

1 g MgSO₄ x 7H₂O – 1,

агар – 15.

pH 7.0.

- для етапу 2 та 3 - бульйон NBRC 802 складу, г/л:

поліпептон - 10,

дріжджовий екстракт - 2,

1 g MgSO₄ x 7H₂O – 1,

фосфатного буфера - 50 mM.

pH 6.0–8.0.

- для етапу 4 є Триптон-соєвий бульйон 545 (TSB) складу, г/л:

панкреатичний перевар казеїну- 17,

хлорид натрію – 5,

соєтон (соєвий пептон) – 3,

глюкоза -2,5,

K₂HPO₄ – 2,5.

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

Слід враховувати, що ПЕТаза є позаклітинним та індукцибельним ферментом. Індукцибельні – утворюються як відгук на наявність у поживному середовищі певної речовини – індуктора і не утворюються при його відсутності (як правило, це усі гідролітичні ферменти). Наприклад, при біосинтезі амілолітичних ферментів індуктором біосинтезу є крохмаль, а репресором – глюкоза, для отримання галактозидази в середовище вводять лактозу. Тому до складу середовища у основному ферментері обов’язково включають речовину, яка є індуктором синтезу ферменту. Такою речовиною може бути етиленгліколь, який разом із похідними фталевої кислоти є одним із мономерів при отриманні ПЕТ.

3.3 Характеристика біологічного об’єкту

На сьогоднішній день найактивнішим продуцентом ПЕТази є бактерія *Ideonella sakaiensis* штам 201-F6.

Домен: Бактерії

Тип: Протеобактерії

Клас: Бета-протеобактерії

Порядок: *Burkholderiales*

Сімейство: *Comamonadaceae*

Рід: *Ideonella*

Вид: *Ideonella sakaiensis*

Ideonella sakaiensis - це бактерія з роду *Ideonella* та сімейства *Comamonadaceae*, здатна розщеплювати та споживати пластиковий поліетилентерефталат (ПЕТ), використовуючи його як джерело вуглецю та енергії. Спочатку бактерія була виділена із зразка осаду, взятого за межами заводу з переробки пластикових пляшок у місті Сакай, Японія.

Ideonella sakaiensis була вперше ідентифікована у 2016 році групою дослідників під керівництвом Кохеї Ода з Кіотського технологічного інституту та Кендзі Міямото з Університету Кейо після збору зразка

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

забрудненого ПЕТ осаду на заводі з переробки пластикових пляшок у Сакаї, Японія. Бактерії вперше були виділені з консорціуму мікроорганізмів у зразку осаду, який включав найпростіші та дріжджоподібні клітини. Було показано, що все мікробне співтовариство мінералізує 75 % розкладеного ПЕТ у вуглекислий газ після того, як його спочатку розклали та засвоїли *Ideonella sakaiensis*.

Ideonella sakaiensis грамнегативна, аеробна паличка. Клітини рухливі і мають один джгутик (монотріх). Колонії *I. sakaiensis* безбарвні, гладкі та округлі, розмір коливається від 0,6 до 0,8 мкм в ширину і 1,2-1,5 мкм в довжину.



Рис. 3.5 - Трансмисійна електронна мікрофотографія клітини *Ideonella sakaiensis* штаму 201-F6, вирощеного в NBRC 802 бульйоні при 30 С протягом 24 год

I. sakaiensis також має позитивний результат на оксидазу та каталазу. Бактерія росте в діапазоні рН від 5,5 до 9,0 (оптимально від 7 до 7,5) і

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

температурі 15–42 °C (59–108 °F) (оптимально при 30–37 °C (86–99 °F)).

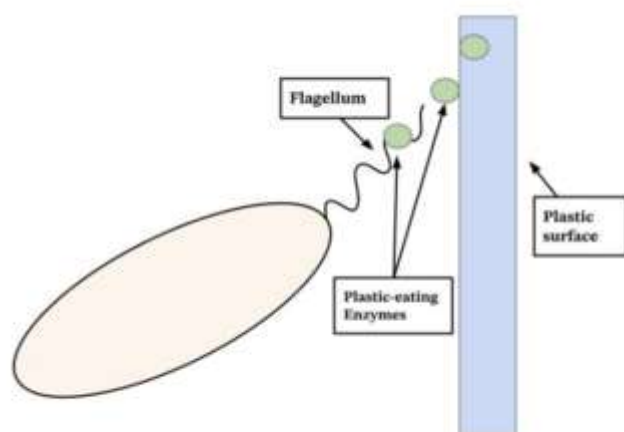


Рис. 3.6 - *Ideonella sakaiensis* прилипає до ПЕТ-пластику тонким джгутиком і доставляє ферменти, що розкладають ПЕТ, на поверхню пластику

Завдяки грамнегативності бактерій вони мають стійкі здібності та гени; це може включати стійкість до антибіотиків. Грамнегативність як характеристика також означає, що ця бактерія має тонку клітинну стінку та високий вміст ліпідів.

Відомо, що *Ideonella sakaiensis* та інші аеробні бактерії виживають у багатому киснем ґрунті, який є вологим та аерованим.

Джгутик бактерії використовується як рухливі органели та здатний обертати та штовхати клітину по всьому її оточенню, створюючи рух. Було також показано, що бактерія росте на поверхні поліетилентерефталату (PET), який є різновидом пластику. Бактерії змогли прикріпитися до ПЕТ-пластику за допомогою свого тонкого джгутика. Ці джгутики також можуть функціонувати для виділення ферментів, що розкладають ПЕТ, на поверхню ПЕТ, відомих як ПЕТаза.

За допомогою філогенетичного аналізу було показано, що вид є частиною роду *Ideonella*, але має суттєво відмінний геном від інших відомих

видів роду, включаючи *Ideonella dechloratans* і *Ideonella azotifigens*, таким чином виправдовуючи його класифікацію як новий вид.

Ideonella sakaiensis прилипає до поверхні ПЕТ і використовує секретовану ПЕТ гідролазу, або ПЕТазу, для розкладання ПЕТ до моно(2-гідроксіетил)терефталевої кислоти (МНЕТ), гетеродимера, що складається з терефталевої кислоти (ТРА) і етиленгліколю. PETase також розкладає PET на іншу проміжну речовину, відому як біс-(2-гідроксіетил) терефталат (ВНЕТ), ВНЕТ може бути перетворений на МНЕТ після гідролізу PET.

ПЕТ-аза *I. sakaiensis* функціонує шляхом гідролізу складноефірних зв'язків, присутніх у ПЕТ з високою специфічністю. Отриманий МНЕТ потім розкладається на два мономерних компоненти ферментом МНЕТ-гідролазою, або МНЕТase, закріпленим на ліпідах, на зовнішній мембрані клітини. Мономерні компоненти, такі як етиленгліколь, потім поглинаються і використовуються *I. sakaiensis* та багатьма іншими бактеріями. Інша складова; терефталева кислота, більш стійка сполука, імпортується в клітину *I. sakaiensis* через білок-транспортер терефталевої кислоти. Потрапляючи в клітину, молекула ароматичної терефталевої кислоти окислюється 1,2-діоксигеназою терефталевої кислоти та 1,2-дигідрокси-3,5-циклогексادیєн-1,4-дикарбоксилатдегідрогеназою до проміжного катехолового продукту. Потім катехолове кільце розщеплюється РСА 3,4-діоксигеназою перед тим, як сполука інтегрується в інші метаболічні шляхи (наприклад, цикл ТСА). У результаті обидві молекули, отримані з PET, використовуються клітиною для виробництва енергії та побудови необхідних біомолекул. Згодом асимільований вуглець може бути мінералізований до вуглекислого газу та викинутий в атмосферу.

Відкриття *Ideonella sakaiensis* має потенційне значення для деградації ПЕТ-пластику. До його відкриття єдиними відомими розкладачами ПЕТ була невелика кількість бактерій і грибків, у тому числі *Fusarium solani*, і не було остаточно відомо про жодні організми, здатні розкласти ПЕТ як основне

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

джерело вуглецю та енергії. Відкриття *I. sakaiensis* викликало дискусію про біодеградацію ПЕТ як метод переробки та біоре mediaції.

Бактерія дикого типу здатна колонізувати та руйнувати тонку (товщиною 0,2 мм) плівку низькокристалічного (м'якого) ПЕТ приблизно за 6 тижнів, і було показано, що відповідальний фермент ПЕТаза руйнує висококристалічний (твердий) ПЕТ приблизно у 30 разів повільніше (180 тижнів або більше 3 років), ніж низькокристалічний ПЕТ. Велика кількість виготовленого ПЕТ є висококристалічним (наприклад, пластикові пляшки), тому вважається, що будь-якому перспективному застосуванню ферменту *I. sakaiensis* PETase у програмах переробки має передувати генетична оптимізація ферменту.

Фермент MHETase також можна оптимізувати та використовувати для переробки або біоре mediaції в поєднанні з ферментом PETase. Він розкладає MHET, що виробляється PETase, на етиленгліколь і терефталеву кислоту. Утворившись, ці дві сполуки можуть бути далі біологічно розщеплені до вуглекислого газу за допомогою *I. sakaiensis* або інших мікробів, або вони можуть бути очищені та використані для виробництва нового ПЕТ на промисловому заводі з переробки.

Ideonella sakaiensis вивчається на предмет здатності ПЕТ деградувати як засіб управління водними ресурсами рибних господарств, що живляться стічними водами. Доведено, що різні штами цієї бактерії не становлять загрози для росту та вирощування риби. Цей вид бактерій здатний належним чином використовувати ПЕТ як джерело вуглецю та процвітати у стічних водах і забруднених пластиком водних екосистемах, показуючи свою перспективу як економічно ефективного засобу проти забруднення.

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

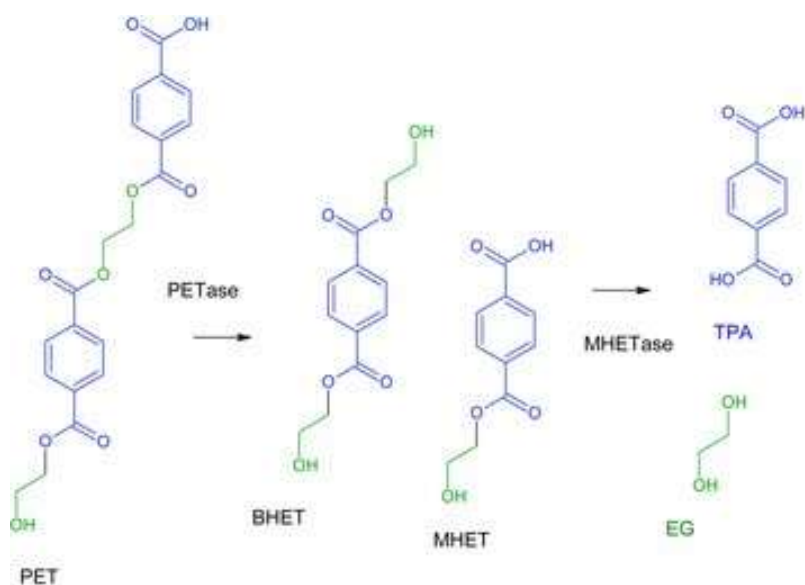


Рис. 3.7 - Хімічний механізм ферменту PETase *I. sakaiensis*

Фермент *Ideonella sakaiensis*, що розкладає ПЕТ пластик, відомий як; PETase була генетично модифікована та поєднана з MHETase для швидшого руйнування PET, який також руйнує PEF (поліетиленфураноат) пластик. Це разом з іншими підходами може бути корисним у різних зусиллях, таких як; переробка та вторинна переробка змішаного пластику.

4 ТЕХНОЛОГІЧНІ РОЗРАХУНКИ

4.1 Обґрунтування технологічної схеми та обладнання

Штамм *Ideonella sakaiensis* 201-F6 росте в діапазоні рН від 5,5 до 9,0 (оптимально від 7 до 7,5) і температурі 15–42 °С. Отже можливий ризик контамінації мезофільними та нейтрофільними мікроорганізмами. Це зумовлює необхідність забезпечення асептичних умов, що не можливо досягти при поверхневому(твердофазному) культивуванні. Асептичні умови забезпечують стерилізацією обладнання і комунікацій, поживного середовища, аераційного повітря. Для запобігання контамінації в ферментері створюється надлишковий тиск. Для культивування використовують глибинний спосіб з інтенсивним перемішуванням. Можливе здійснення періодичного, так і безперервного культивування, вибір залежить від потужностей та можливостей підприємства.

Основними вимогами до ферментеру для культивування продуценту є: можливість культивування в асептичних умовах, можливість інтенсивної аерації, тип мішалки та відповідна в даному випадку тепло- та масопередача.

Оскільки вирощування продуцента потребує інтенсивної аерації, важливим фактором є вибір відповідної мішалки. Більш придатними для цього є механічні або лопатеві мішалки з низькою швидкістю обертання. Низька швидкість обертання потрібна для того, щоб забезпечити цілісність клітин, які можуть бути зруйновані при швидкому обертанні мішалки. Також може використовуватись мішалка шнекового типу.

Обов'язковою умовою культивування є безперевна аерація поживного середовища. Вона забезпечується шляхом подачі аераційного повітря через барботер. Барботер повинен забезпечувати стабільну аерацію середовища та складати 1 об'єм повітря на 1 об'єм культуральної рідини.

При культивуванні важливо контролювати рівень рН, тому

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

встановлюють датчик контролю. Продуцент є мезофілом, тому необхідно здійснювати регуляцію та контроль температури. Для встановлення та підтримки певного температурного режиму необхідна наявність теплової сорочки з подачею до неї нагрітої води. Отже, зазначивши всі характерні особливості культивування, а саме: наявність мішалки, що не пошкодить клітини, наявність барботера, теплової сорочки та датчика контролю рН, ми можемо зробити висновок що для даного типу мікроорганізму підходить ферментер з механічним перемішуванням барботажного типу.

Підготовка обладнання, як основна складова санітарної підготовки виробництва направлена на досягнення необхідного рівня чистоти та асептичності. Наприклад, підготовка інокуляторів, ферментерів та установки для проведення безперервної стерилізації (УБС) включає такі операції:

Миття обладнання. Миття обладнання проводять наступним чином. Спочатку миють водою протягом двох хвилин з передачею води у збірник нейтралізації перед скидом рідини у систему каналізування рідких викидів. Миття продовжують розчином лугу 1%, протягом 10 хвилин при 40 °С, з поверненням розчину в збірник нейтралізації. Проводиться ополіскування очищеною або пом'якшеною водою, з передачею води в збірник нейтралізації. Якщо в обладнанні (на поверхні) присутні стійкі до видалення забруднення речовини, то миття проводять розчином кислоти 1 % при 20 °С, з повертанням розчину у збірник нейтралізації. Також проводять ополіскування очищеною або пом'якшеною водою з передачею води в збірник нейтралізації. Процес завершується ополіскуванням очищеною водою, протягом 5 хвилин з повертанням води в збірник рециркуляційної води.

Механізовані миючі установки фірми «Керхер» (Германія). Більш довершеною конструкцією є миючі пересувні установки «Керхер». Миючий пристрій представляє собою розбризкуючу голівку, укріплену за допомогою опорного пристосування опускається всередину апарату і під натиском

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

гарячого струменя води в 3—5 МПа швидко та ефективно очищає його внутрішню поверхню.

Залежно від конструкції апарату, предмета миття, застосовуються різні опорні пристосування для миючого пристрою. Для миття апаратів малої місткості миючий пристрій кріпиться на короткій вертикальній трубі і занурюється через люк апарату, що знаходиться на кришці. Опора лягає на фланець кришки апарату, закріплюється, а глибина занурення регулюється. Крім обертання навколо власної осі розбризкуючі сопла обертаються одночасно навколо подовжньої осі миючої головки апарату, завдяки чому струменя миючого розчину досягають всі точки внутрішньої поверхні апарату. На всмоктуючій стороні насоса температура миючої рідини складає 50–60 °С, на нагнітальній стороні після нагріву в теплообміннику 90–95 °С. Бак з миючим розчином і регулюючим вентилем для подачі розчину, насос, що створює тиск струменя, необхідний для миття і очищення бака з фільтром, куди стікає миюча рідина із зливного отвору апарату, змонтовані напересувному візку. Рідина для миття може бути використана багато разів завдяки циркуляційному контуру і фільтрації через вбудований фільтр. Внутрішня миюча головка може працювати з двома або чотирма соплами. При двох соплах струмінь довший і сильніший, що необхідне при митті великих або сильно забруднених апаратів. Миюча установка фірми «Керхер» дозволяє отримувати всі види струменю (паровий, гарячий, теплий і холодний) з автоматичним дозуванням хімікатів. Частота обертання миючого пристрою вибирається залежно від ступеня забруднення апарату і його радіусу. Чим більше радіус і ступінь забруднення, тим менше швидкість обертання.

Обов'язковим елементом підготовки є перевірка якості проведених робіт для цього проводять профілактичний огляд та перевірку на герметичність. Як правило, така перевірка проводиться після стерилізації, коли проявляються можливі нещільності у місцях з'єднання елементів

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

обладнання та апаратури.

Перевірка на герметичність ємкісного обладнання, з'єднань, та комунікацій проводиться за допомогою найбільш простого і доступного метода – омилування розчином господарського мила. Саме по виділенню бульбашок виявляють нещільності.

Сучасні технології використовують галоїдні течешукачі, що дозволяють фіксувати галогенопохідні алканів. Тетрахлорметан закачують в герметично закриті обладнання та комунікації до тиску 0,5 МПа та за допомогою датчика-течешукача галогенопохідних проводять огляд всіх з'єднань обладнання та комунікацій. Особливу увагу приділяють фланцевим з'єднанням та ущільненню кришок обладнання. У випадку виявлення нещільних з'єднань проводять розбір та профілактичне ущільнення обладнання та комунікації. Для з'єднань проводять їх підтягування та перепаковування, а для обладнання підтягування кришок, або з'єднань і в випадку необхідності заміну ущільнюючих прокладок люків та кришок. В якості ущільнюючого матеріалу використовують термостійку гуму, пароніт, фторопласт.

Одним з факторів, що найістотніше впливає на біосинтез біологічно активних речовин, є забезпечення стерильності виробництва, зокрема стерильності комунікацій та обладнання, що безпосередньо контактує з культуральною рідиною.

У біотехнології застосовують різні способи стерилізації, але при цьому контамінуюча мікрофлора повинна бути повністю зруйнована або видалена. Процес дії на контамінанти при якому вони руйнуються або повністю видаляються називають стерилізацією. Основним визнаним у біотехнології стерилізаційним прийомом є обробка обладнання та комунікацій насиченою водяною парою при $t = 125-145^{\circ}\text{C}$, при цьому існує висока гарантія досягнення необхідного рівня асептичності. Після закінчення кожного циклу біосинтезу в посівному і основному ферментерах і видаленню з них

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

культуральної рідини ферментери відкривають і миють гарячою водою з брандспойта, миючого пристрою (гідромонітору) очищаючи від залишків біомаси. Послідовність носить стандартний характер і, як правило, включає такі роботи. Барботер продувають повітрям. Після огляду, а при необхідності і ремонту, ферментер знову миють водою, закривають люк і разом з іншою апаратурою стерилізують гострою та глухою насиченою парою. Перед стерилізацією апаратуру і комунікації промивають водою температурою 100 °С з магістрального трубопроводу. Стерилізаційну колонку УБС, витримувач УБС, холодильник, комунікації від холодильника до ферментеру і лінію транспортування культуральної рідини, стерилізують при надлишковому тиску 0,15 – 0,18 МПа протягом 2 год, пропускаючи пару в основній ферментер. Стерилізація ферментера продовжується 2 – 3 год під надлишковим тиском 0,12 – 0,15 МПа.

Одночасно стерилізують фільтри тонкого очищення повітря (стерилізуючи індивідуальні фільтри) і повітряні комунікації. Стерилізують фільтри 1 годину під надлишковим тиском 0,12–0,15 МПа. В кінці стерилізації пропарюють пробовідбірники, продуктовий штуцер для засіву, зливну лінію від ферментера до трапа протягом 30 хвилин.

Пара для стерилізації повинна бути насиченою та сухою. Вологість пари знижує приховану теплоту паротворення, а отже, нефективність дії на мікроорганізми. Недоцільно застосовувати і перегріту пару, оскільки при температурі, однакої з насиченою парою, при її охолодженні без конденсації виділяється набагато менше тепла. У присутності повітря температура пари нижча за загальний тиск, тому повітря потрібно повністю заздалегідь видаляти. Зазвичай це досягається гравітаційним способом – витісненням парою, що має вищу щільність, ніж повітря. Видалення повітряних пробок дозволяє прогріти всі деталі устаткування і усунути разом з ними можливе джерело інфекції.

Завдяки хорошій теплопровідності металу і обмиванню внутрішньої

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

поверхні ферментера конденсатом пари цим способом досягається надійна стерилізація. Проте перед стерилізацією з ферментера необхідно видалити осад і вимити його, інакше в осаді може зберегтися стороння мікрофлора і надалі бути джерелом інфекції. Тривалість стерилізації, як правило, дається без урахування часу, що витрачається на видалення повітря і прогрів ферментера. Слід приділяти більшу увагу тим частинам ферментеру та комунікацій, що визначаються, як важкодоступні: штуцерам, пробовідбірникам, датчикам, в трубопроводах – запорній арматурі, фланцям, фасонним деталям, тупиковим місцям і відкритим закінченням труб. Для забезпечення і підтримки асептичності після закінчення стерилізації ферментер через барботер подають стерильне повітря, підтримуючи надмірний тиск 0,02 – 0,03 МПа (щоб уникнути попадання сторонньої мікрофлори).

Для стерилізації повітря в боксах та лабораторіях, де працюють з посівною культурою та інокулятом, використовують УФ-лампи. Повітря для вирощування посівного матеріалу та виробничого культивування стерилізують за допомогою фільтрів грубої очистки (головні фільтри) та індивідуальних фільтрів (фільтрів високої ефективності). Індивідуальні фільтри встановлюються безпосередньо перед кожним ферментером. Головні фільтри заповнюються набивним волокном і встановлюються в цеху ферментації на головному повітряному колекторі стиснутого аераційного повітря. На цих фільтрах видаляється близько 98 % мікроорганізмів-контамінантів. Використання ж індивідуальних фільтрів, які заповнюються надтонкими мембранами чи волокнами, дає змогу отримати повітря зі ступенем очистки 99,9999%.

Обґрунтування стадії підготовки повітря для сушарки Для сушіння цільового продукту необхідно аераційне повітря. Оскільки готовий продукт не потребує високих умов асептичності, а також нагрівання його здійснюватиметься до 80 С, достатньо використовувати головні фільтри

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

грубої очистки. Головні фільтри заповнюються набивним волокном і встановлюються в цеху ферментації на головному повітряному колекторі стиснутого аераційного повітря. На цих фільтрах видаляється близько 98 % мікроорганізмів-контамінантів.

Культуральна рідина містить як цільовий продукт, так і залишки поживного середовища, клітини продуцента. Отже першим етапом є відділення клітин від культуральної рідини. Далі відділену біомасу необхідно висушити за допомогою сушарки.

Оскільки продукт випускатиметься у вигляді порошку, висушену біомасу потрібно подрібнити.

Отже, виділення і очищення включає такі етапи:

1. Відділення біомаси
2. Сушіння
3. Подрібнення біомаси.

Обґрунтування вибору способу відділення біомаси. Культуральну рідину необхідно відділити від клітин. Відділення можливо методом фільтрації. Переваги цього методу:

- є досить економічним, суспензія фільтрується досить швидко, відсутність температурних, механічних і хімічних дій на продукт, що переробляється;
- простота апаратурного оформлення, відсутність рухомих деталей;
- низька енергоємність процесу.

Але даний метод має і недолік - фільтруюча суспензія схильна до гелеутворення, продуктивність фільтрів швидко падає. Запобігти цьому можна додаванням в суміш або на фільтруючу тканину розмелених вулканічних порід, що містять оксиди кремнію і алюмінію, тоді осад набуває пористу структуру [17].

Для відділення біомаси можливо також використанням центрифуг. Даний метод потребує більш дорогого устаткування, ніж фільтрування. Тому

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

він виправдовує себе, якщо:

- а) суспензія фільтрується повільно;
- б) поставлене завдання максимально звільнює культуральну рідину від клітин;
- в) необхідно налагодити безперервний процес сепарації в умовах , коли фільтри розраховані тільки на періодичну дію [18].

В нашому випадку цей метод є недоцільним, оскільки суспензія фільтрується відносно швидко, а виготовлення ферменту для біодеградації не потребує суворих умов відсутності клітин.

Обґрунтування вибору типу фільтру

Необхідно профільтрувати 3,6 м³ культуральної рідини. Рідина містить тверду фазу (біомасу клітин із ферментом) та рідку фазу (супернатант). Для здійснення цього процесу фільтри не мають бути громіздкими, мають добре відділяти тверду фазу від рідкої. Також фільтр повинен бути зручним та економічним.

Існують такі типи фільтрів:

1) Прес-фільтри. Підходять для відділення твердої фази від рідкої, а також для великих об'ємів культуральної рідини. Мають суттєвий недолік, а саме зниження швидкості фільтрації в процесі фільтрування [20]. Але ця проблема вирішується додаванням порошку на фільтрувальну тканину, що містить оксиди кремнію і алюмінію.

2) Барабанні вакуум-фільтри. Недоліком є велика площа обладнання при малій робочій поверхні та низька швидкість фільтрації (3 об/хв), отже для великої кількості культуральної рідини використовувати недоцільно. Також даний вид фільтрів призначений для розділення речовин з більш менш однаковою дисперсністю [19].

Отже, проаналізувавши вищезазначені дані, можна зробити висновок, що найвигіднішим є використанням прес-фільтрів. Класичний фільтр-прес потребує ручного зняття осаду. Останнім часом з'явилися фільтри, у яких

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

операції фільтрації, промивання осаду та його зняття з фільтруючої перегородки є автоматизованими. Це фільтр-преси рамного, стрічкового та баштового типу.

1) Фільтр преси рамного типу. Є досить ефективним, простими в конструкції, відділяють тверду фазу від рідкої.

2) Фільтр-преси стрічкового типу. Недоліком є те, що вони не підходять для неопрацьованих осадів [21].

3) Фільтр-преси баштового типу - призначені для високопродуктивних робочих процесів ($25-800 \text{ м}^2$), отже, для даного виробництва ($3,6 \text{ м}^3$ культуральної рідини) не підходить. Отже, найбільш доцільним є використання рамного фільтр-пресу [20].

Обґрунтування вибору способу сушіння цільового продукту. Для отримання концентрату ферменту культуральну рідину слід висушити. Сушіння продукту мікробного синтезу зазвичай проводиться за допомогою контактної, конвективної та радіаційної сушки.

Перевагами контактної сушки є інтенсивність та економічність. Але цей метод є непридатним для термолабільних препаратів. Фермент є частково термолабільним, отже цей метод не є доцільним [18].

Метод конвективної сушки застосовується в біотехнології найширше. Цей метод є відносно економічним. Також в ньому нагрівається не тільки водна складова, а поступово весь продукт від зовнішніх до внутрішніх його шарів [21].

Основною перевагою радіаційної сушки є висока перспективність, а також збереження всіх речовин. Недоліками є висока вартість обладнання, великі витрати енергії, цей метод зазвичай застосовується при сушці мікробних препаратів. Отже, для одержання концентрату ферменту використовуємо метод конвективної сушки [18].

Обґрунтування вибору типу сушарки. Конвективна сушка проводиться за допомогою розпилюючих, пневматичних, аерофонтанних, стрічкових

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

сушарок та сушарок з киплячим шаром [17]. Оскільки процес включає в себе висушування біомаси клітин, сушарка повинна мати широку конструкцію. Фермент є речовиною частково термолабільною, отже в сушарці має бути передбачена можливість невисокої температури сушки, до 80°C. Сушарка має бути простою в конструкції та економічною.

1) Пневматичні сушарки. Недоліком є вузька конструкція, що не призначена для сушіння відформованого міцелію та сипких речовин, а також висока температура сушіння (140-150°C)

2) Розпилювальні сушарки мають маленьку камеру для сушки, призначені в першу чергу для сипких та пастоподібних матеріалів.

3) Аерофонтанні сушарки мають зависоку температуру сушіння, а також вузьку конструкцію.

4) Стрічкові сушарки мають широку камеру для сушіння, що цілком підходить для висушування відформованої біомаси, а також в цих сушарках передбачена можливість регулювання температури, отже, можна встановити температуру, що не спричинить руйнування ферменту. Для висушування концентрату слід використовувати стрічкову сушарку.

Отже, для виділення та очищення ферменту передбачено відділення біомаси за допомогою фільтр-пресу рамного типу; конвективне сушіння з використанням стрічкової сушарки з наступним подрібненням на молотковій дробарці.

Обґрунтування стадії подрібнення. Подрібнення може здійснюватись за рахунок перетирання, удару, роздавлювання, або поєднанням всіх цих процесів. Очевидно, що найстарішими методами помолу були роздавлювання на камені (в ступі) та розтирання на жорнах. Безпідпорне подрібнення ударом (молоткові дробарки) з'явилося досить недавно, коли людина винайшла машини, що можуть обертати вали із великою швидкістю [22].

Зараз використовують такі види дробарок, як:

1) валкова дробарка

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

- 2) бігунова дробарка
- 3) жорнова дробарка
- 4) дискова дробарка
- 5) дезінтегратор
- 6) кулькова дробарка
- 7) молоткова дробарка
- 8) вібраційна дробарка
- 9) стрижнева дробарка

Найбільш розповсюджені - молоткові дробарки. Імовірно, що цими дробарками подрібнюється більше 95% усієї продукції у світі [23]. Вони можуть бути з різним виконанням, різної конструкції, але всі вони мають такі робочі органи: Обертовий ротор з молотками, дробильна камера з міцного решета, рідше рифлена дека. Зазвичай, обертовий ротор розташований на горизонтальному валу – це класичне виконання молоткових дробарок. Також існують варіанти із вертикальним валом та горизонтальним обертанням молотків. Ці дробарки мають декілька суттєвих переваг.

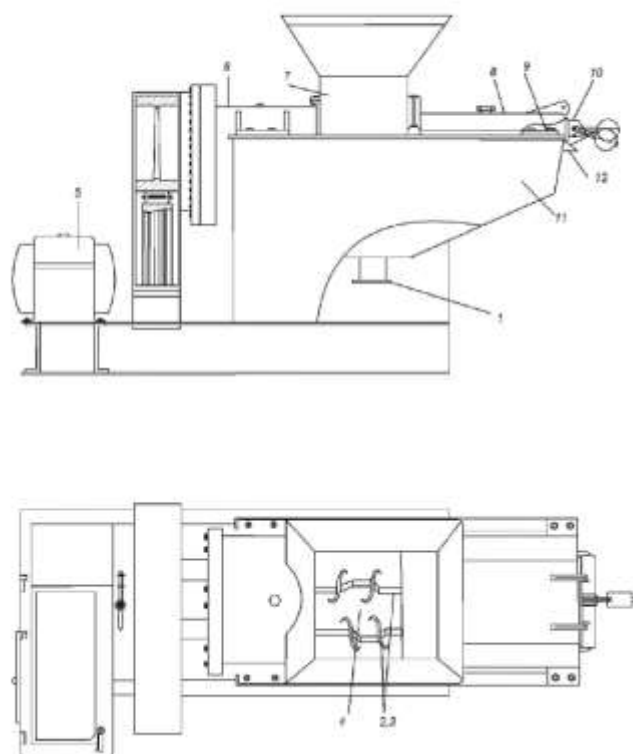
Є два шляхи подачі продукту у подрібнюючу камеру класичної дробарки:

- Верхній
- Боковий (зазвичай, пневматичний) [22].

Так як більш розповсюджений вид дробарок це молоткова дробарка, обираємо її за більш багату функціональність та простоту в роботі.

Отже, першою стадією виділення та очищення ферменту є відділення біомаси за допомогою фільтр-пресу, креслення якого наведено на рис. 4.3.

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		



Технічні характеристики

Продуктивність на вологу біомасу	400 кг/год
Потужність	10 кВт
Вага	750 кг
Габарити	2400*850*1317 мм
Діаметр шнеку	160 мм
Число обертів шнеку	38 2 об/хв

Перелік основних частин обладнання

Код позначки	Найменування	К-т
1	Діюча для вибірки фільтру	1
2	Шнек правий	1
3	Шнек лівий	1
4	Камера шнека	1
5	Електропривод	1
6	Редуктор	1
7	Вулик	1
8	Конус	1
9	Листів відбілювання	1
10	Лінійка	1
11	Спінинка	1
12	Полка	1

Рис. 4.3 – Фільтр-прес для відділення біомаси продуцента

Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата

162.01.07.00 000 ПЗ

Арк.

5 СХЕМИ ВИРОБНИЦТВА ТА ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ

5.1 Біологічна схема

Біологічна схема виробництва ПЕТази представляє собою класичний принцип масштабування продуцента *Ideonella sakaiensis* 201-F6 в оптимальних середовищах: у пробірках на агарі NBRC 802, у колбах та інокуляторі - бульйон NBRC 802, у виробничому ферментері - Триптон-соевий бульйон 545 (TSB) із додаванням індуктора (етилєнєлїєоль).

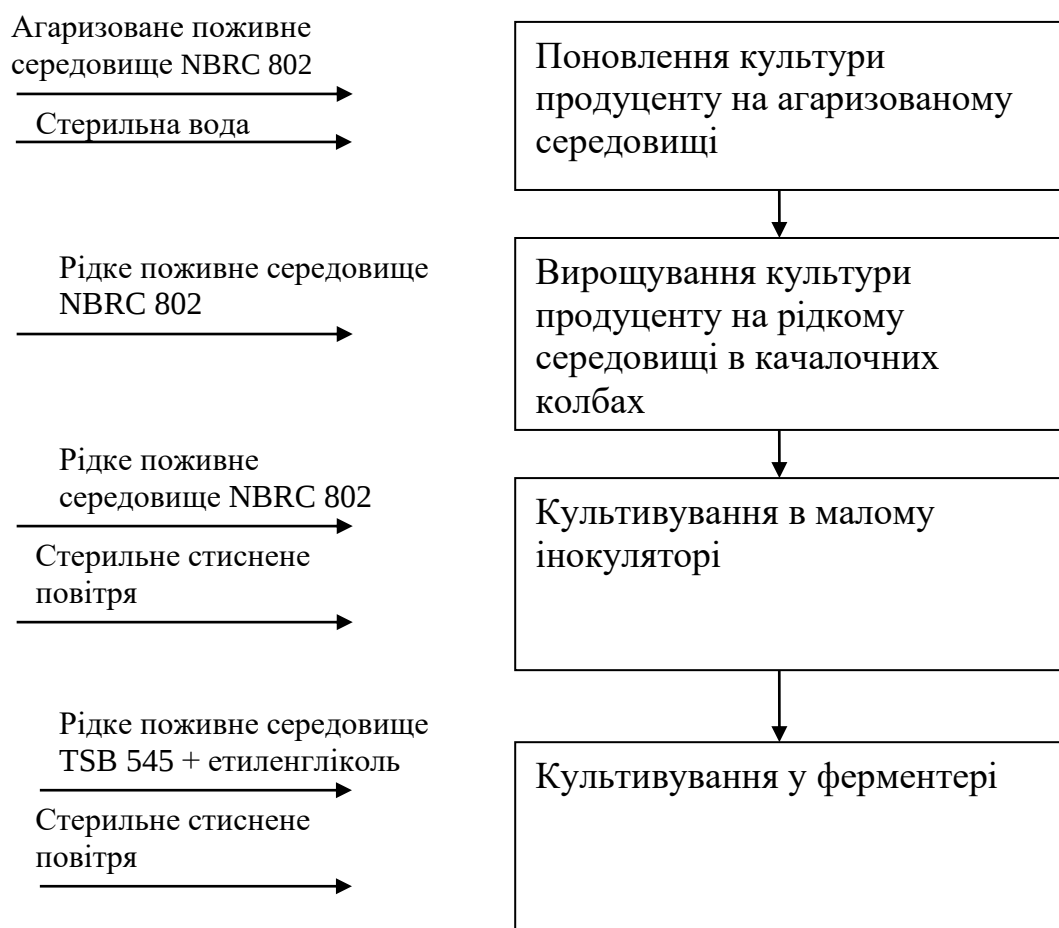


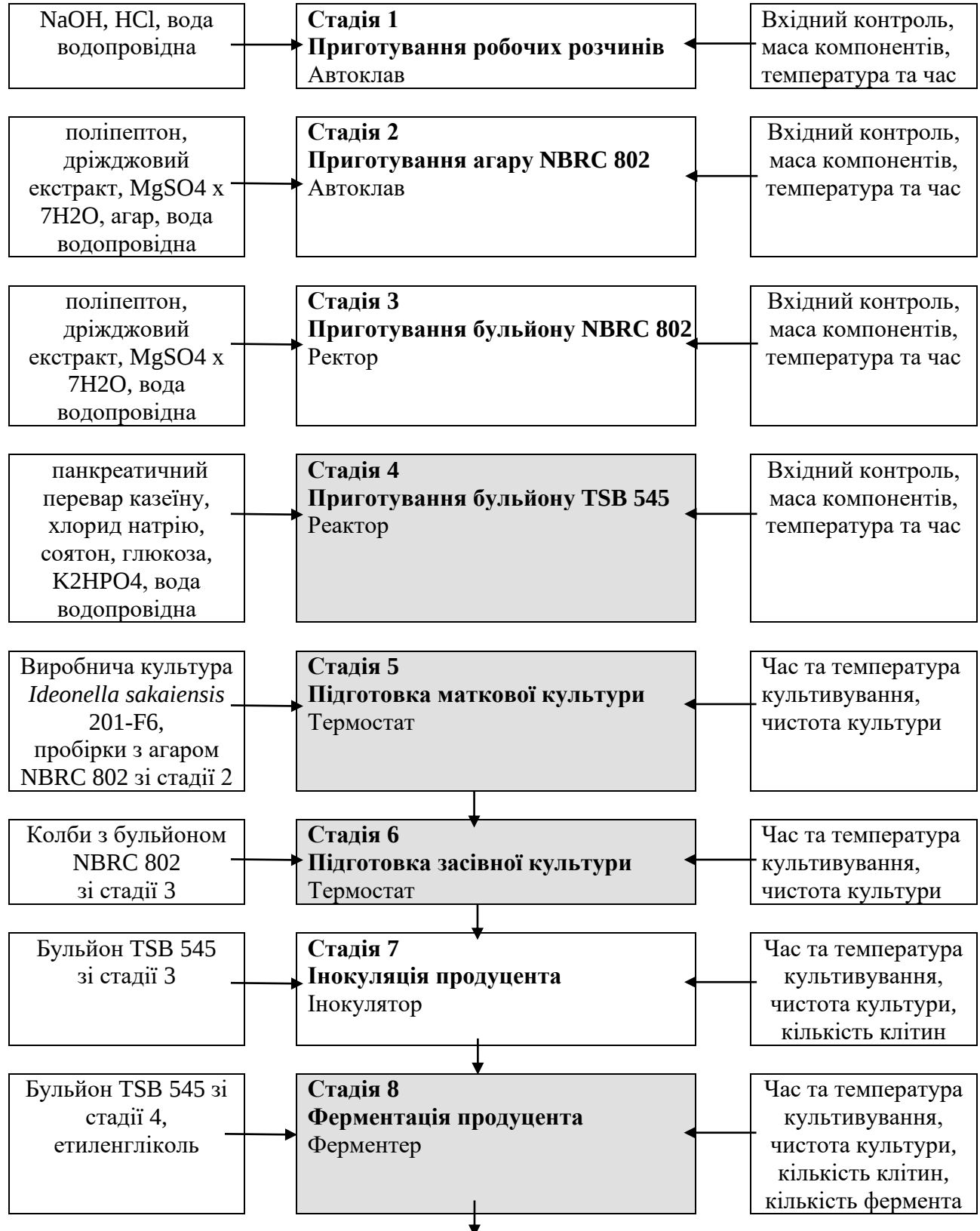
Рис. 5.1 - Принципова схема приготування засівного матеріалу при глибинній ферментації

5.2 Технологічна схема виробництва

*Вихідна сировина
Проміжна
продукція*

Виготовлення фермента ПЕТази

*Контроль у процесі
виробництва*



Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата

162.01.07.00 000 ПЗ

Арк.

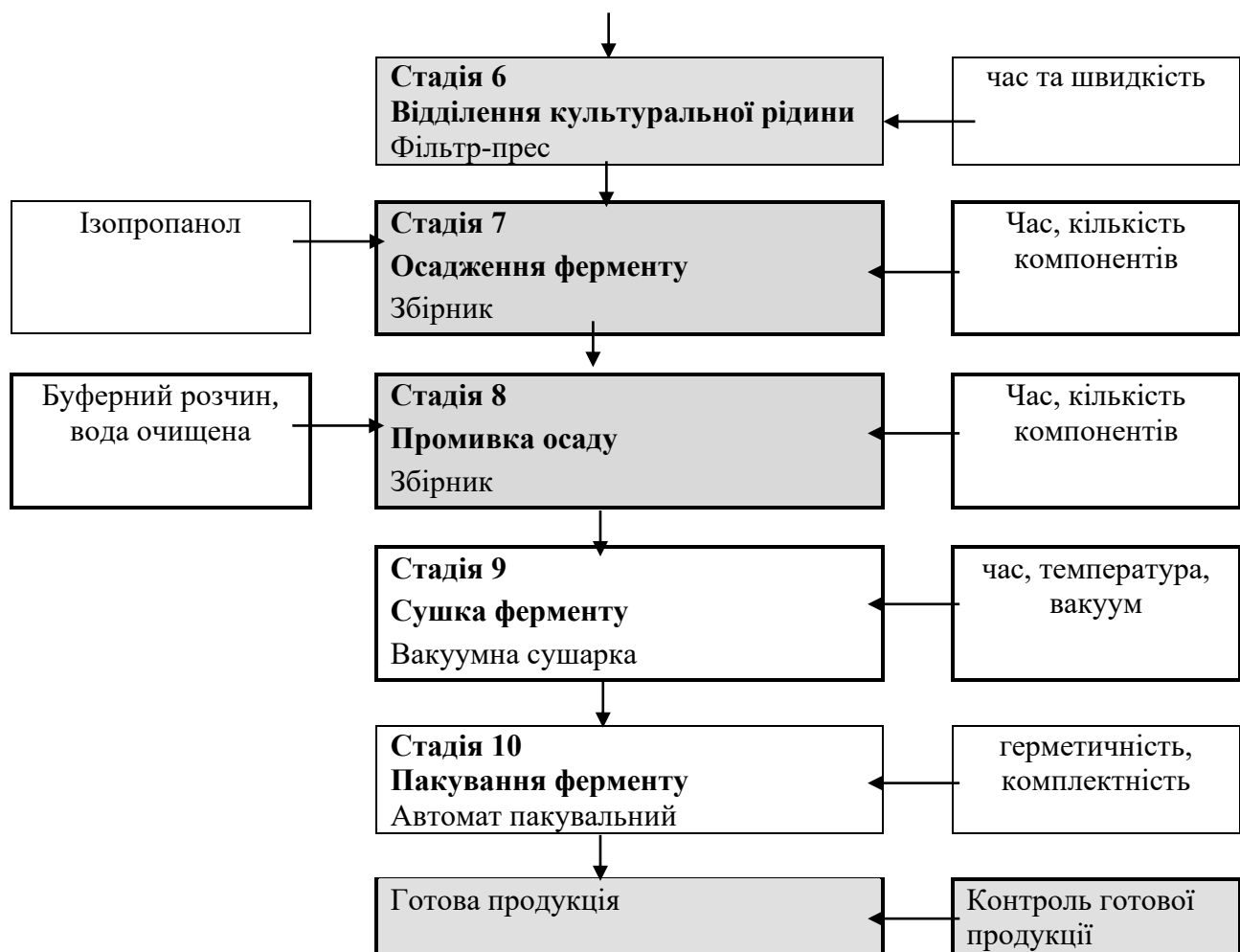


Рис. 5.2 - Технологічна схема виробництва фермента ПЕТази на потужностях підприємства

5.3 Апаратурна схема виробництва

Апаратурна схема виробництва фермента ПЕТази на потужностях підприємства Ензим наведена на рис. 5.3.

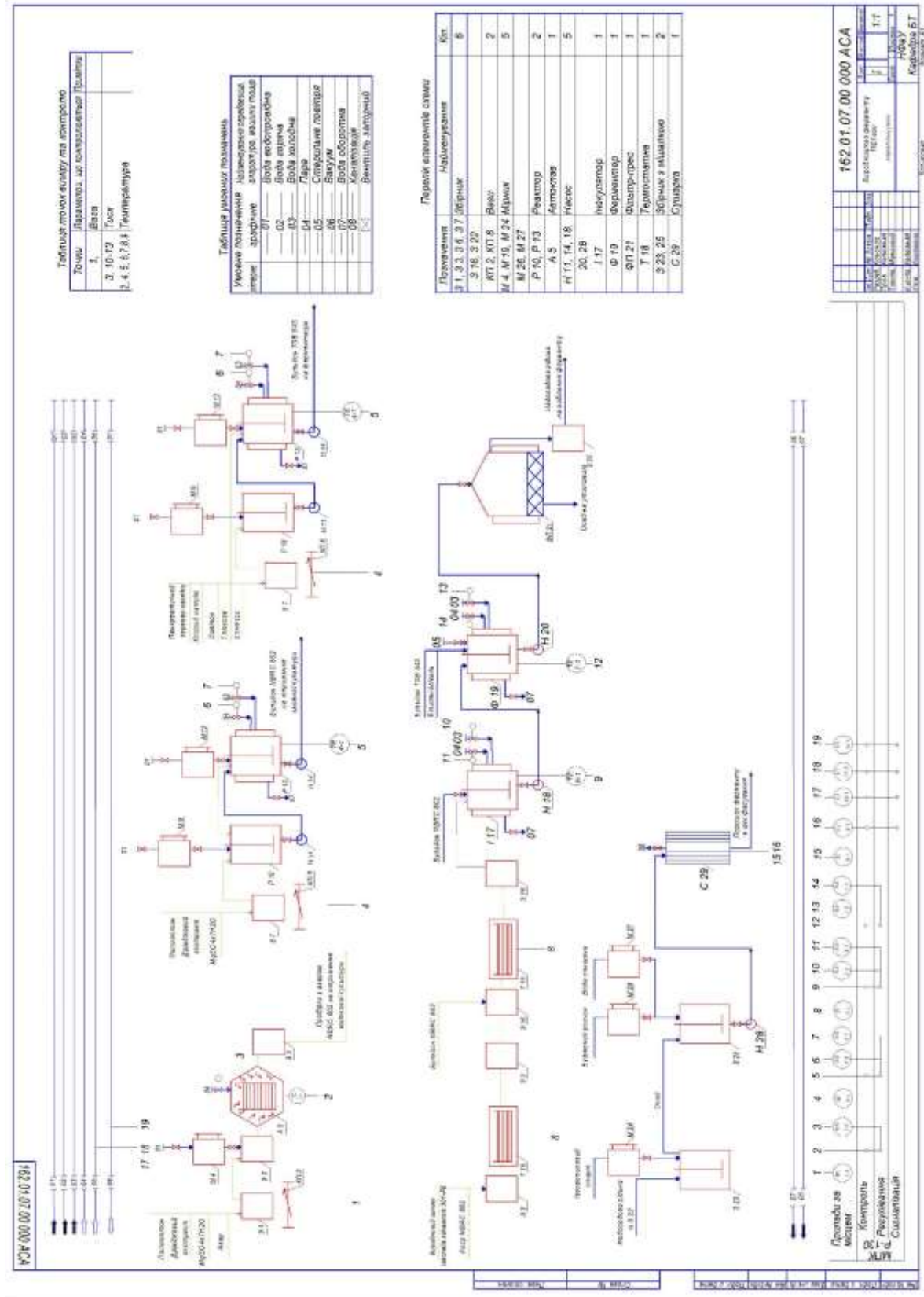


Рис. 5.3 - Апаратурна схема виробництва фермента ПЕТази

5.4 Опис технологічного процесу виробництва

Санітарна підготовка виробничих приміщень це комплекс заходів, що складається з вологого прибирання, дезінфекційної обробки, та ультрафіолетового опромінення поверхонь приміщень.

Підготовка миючих та дезінфікуючих розчинів

Підготовка миючих розчинів полягає у змішуванні миючих та дезінфікуючих засобів з водою для отримання концентрації, необхідної для мийки обладнання, підлоги, стін, столів.

Приготування розчину каустичної соди

Для миття обладнання використовується 2% розчин каустичної соди. Для приготування 1 л розчину через об'ємно-ваговий дозатор подають 20 г сухої каустичної соди у збірник і додають близько 980 мл води. Приготований розчин зберігають у герметично закритому скляному посуді в прохолодному місці.

Приготування хлораміну Б

Для знезараження підлоги застосовують також 1 % розчин хлораміну Б. Для приготування 10 л робочого розчину хлораміну Б у збірник. Через об'ємно-ваговий дозатор подають 10 г хлораміну Б і наливають відповідно 9 л технічної води. Розчин готують для разового застосування.

Приготування розчину дезактіну

Для обробки приміщень, повітроводів, обладнання використовують 2% розчин дезактіну. Для приготування 10 л робочого розчину дезактіну через об'ємно-ваговий дозатор у збірник наливають відповідно 9 л технічної води та 1 л дезактину, залишають на 24 год в прохолодному приміщенні. Розчин готують для разового застосування

Підготовка виробничих приміщень

Прибирання виробничих приміщень поділяється на щоденне та генеральне. У якості матеріалу для прибирання застосовують серветки з

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

підшитими краями з тканини бавовняної і змішаної плательної. Матеріал для прибирання (відра, ганчірки і т. ін.) промаркований, використовують його тільки за призначенням, зберігають в спеціальних шафах.

Щоденне прибирання

Щодня проводять прибирання підлоги із застосуванням 2% дезактіну з розрахунку 150-170 мл розчину на 1 м². Для знезараження підлоги, поряд з розчином дезактіну, використовують 1 хлораміну Б. Панелі, стіни, двері виробничих приміщень щодня протирають вологою хлопчасто-паперовою тканиною, змоченою в 2% розчині дезактіну. Особливо ретельно протирати ручки і нижні частини дверей. Внутрішню скляну поверхню рам промивають і протирають у міру забруднення.

Для знезараження поверхні стін, підлоги, стелі, обладнання, а також повітря мікробіологічної лабораторії використовують бактерицидні лампи. Після проведення дезінфікуючої обробки приміщення звільняють від персоналу і включають настельні бактерицидні лампи не менше ніж на 2 год. Вимикачі для відкритих бактерицидних ламп розміщені поза опромінюваним приміщенням з сигнальним написом "Увімкнені бактерицидні лампи". Через кожні 2-3 години роботи ламп їх вимикають на 1,0-1,5 години. Встановлена потужність відкритих ламп не перевищує 2,0-2,5 Вт потужності на 1 м³ приміщення.

Генеральне прибирання

Генеральне прибирання виробничих приміщень проводять не рідше 1 разу на тиждень. Прибирають підлоги, стіни, стелі, повітроводи, підвіконня, поверхні всього обладнання, комунікації, всі виробничі меблі.

В якості дезінфікуючих розчинів використовують 2% розчин дезактіну, 1% розчин хлораміну Б (для обробки підлоги), нагрітий до температури 40-50 ° С.

Допоміжні приміщення (відділення водопідготовки і підготовки

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

повітря, побутові приміщення) піддають обробці аналогічно виробничим приміщенням з періодичністю не рідше 1 разу на місяць. Проводять обробку приміщень у рукавичках, окулярах, респіраторі, гумових чоботях і фартуху.

Мікробіологічний контроль проводить мікробіолог за допомогою змивів стерильними тампонами не рідше 1 разу на тиждень під час виробничого процесу і за 1,5 год до початку роботи. У змивах з 100 см² поверхні допускається не більше 10 неспороутворюючих мікроорганізмів на 2-х чашках Петрі. У разі виявлення в повітрі і змивах приміщень грибів або спороутворюючої мікрофлори концентрацію хлораміну Б слід збільшити до 5%. Також необхідно чергувати дезінфікуючі засоби з метою уникнення утворення стійких форм мікроорганізмів.

Підготовка обладнання та комунікацій

Обладнання, що використовується у виробництві піддається очистці від залишків продуктів, чистці, миттю, дезінфекції розчином 2 % каустичної соди з наступним промиванням гарячою водою. Після закінчення обробки виробниче обладнання ополіскують водою знесоленою і висушують. Частини обладнання, які піддаються корозії, протирають серветкою, змоченою 76% етиловим спиртом.

Миття та технічний огляд

З'ємні частини (вузли) обладнання, що безпосередньо стикаються з лікарськими речовинами або засобами, слід зняти, розібрати. Через технологічне обладнання та комунікації пропускають миючий засіб. З'ємні частини (вузли) обладнання вимиваються в розчині миючого засобу при температурі 70-80 °С. Один раз на місяць проводять обробку ферментеру 2% розчином каустичної соди. Для цього в ферментер по завантажувальній лінії з відділення приготування поживного середовища подають розчин каустичної соди за температури 20 °С, після чого ферментер заповнюють водою до необхідного рівня. Розчин каустичної соди в ферментері перемішують за допомогою мішалки чи подачею повітря через барботер

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

упродовж 15 хв.

Після дезинфекції обладнання ретельно промивають питною водою. В усіх цехах виробництва повинні бути розроблені графіки періодичного очищення та миття всього технологічного обладнання. Після миття та ополіскування ємнісного обладнання проводять його технічний огляд з метою виявлення можливих неущільнень в комунікаціях та запірній арматурі на обладнання. У разі їх знаходження проводять підтягування різьбових з'єднань.

Перевірка на герметичність

Перевірку обладнання на герметичність проводять після проведення всіх ремонтних та перевірочних робіт. Ємкісне обладнання на герметичність перевіряють при повітряному тиску 0,1-0,2 МПа. Якщо упродовж 30 хв тиск (за манометром) не знижується, обладнання вважають герметичним.

Фланцеві з'єднання та зварні шви перевіряють на герметичність за допомогою мильної води при повітряному тиску від 0,1 до 0,2 МПа. Герметичність парових вентилів перевіряють на дотик. Раз на тиждень на герметичність перевіряють посівну лінію з усуненням усіх можливих пропусків. Під паровим тиском перевіряють всі матеріальні, посівні і конденсатні вентиля та трубопроводи.

Стерилізація. Після перевірки обладнання та комунікацій на герметичність, подають гостру пару $T=125-130^{\circ}\text{C}$, $P=0,2\text{МПа}$. По закінченні стерилізації зупиняють подачу гострої пари, ставлять всі вузли під паровий захист та знижують тиск. При зниженні тиску проводять охолодження до температури 90°C .

Підготовка аераційного повітря

Забір атмосферного повітря Атмосферне повітря забирають через за допомогою повітрозабірника на висоті 30 м.

Очищення на фільтрі грубої очистки Попередню очистку повітря здійснюють у чарунковому фільтрі. При проходженні повітря через фільтр

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

грубого очищення, пил та механічні частки з повітря осідають, а очищене повітря надходить у компресор. Ступінь очищення становить $E = 80 \%$.

Стиснення (компреміювання) повітря

При стисканні повітря у компресорі його температура підвищується з $15-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ на вході до $200\text{ }^{\circ}\text{C}$ на виході з неї. Перед подачею в головний фільтр повітря охолоджують. Після компресора повітря має наступні характеристики : $P = 0,35\text{ МПа}$, $t = 120\text{ }^{\circ}\text{C}$, $W = 60 \%$.

Охолодження повітря

Стиснене повітря охолоджується у теплообміннику-охолоджувачі до температури $20-35\text{ }^{\circ}\text{C}$, за якої волога повітря конденсується.

Видалення вологи

Волога та пари, що сконденсувались видаляються у ресивері. Крім того, ресивер зменшує пульсацію руху повітря, яка може негативно впливати на роботу подальших фільтрів очищення повітря.

Нагрівання повітря

Повітря підігрівається до температури $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ парою у теплообміннику з метою стабілізації показників.

Очищення повітря в фільтрі тонкої очистки

Попереднє очищення повітря від пилу та мікроорганізмів здійснюється в головному фільтрі. Головний фільтр представляє циліндричну ємність з сферичним дном та кришкою. В середині фільтру знаходяться дві решітки, між якими розміщують фільтруючий матеріал. Заміна фільтрувального матеріалу проводять 2 рази на рік. У разі забруднення, зволоження, інфікування фільтруючого матеріалу проводять позачергову його заміну. Охолоджене повітря, проходячи крізь шар базальтового волокна, очищається від пилу та мікроорганізмів. Ступінь очищення становить $E = 99,5\%$.

Очищення повітря в індивідуальному фільтрі

Заключна стадія очищення повітря від контамінантів здійснюється в індивідуальному фільтрі. Як фільтруючий матеріал використовують

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

фторопластові втулки, товщиною 4 мм. Фільтр являє собою металевий циліндр. Ступінь очищення становить $E = 99,99\%$.

Підготовка допоміжних речовин

Під час виробничого процесу необхідно контролювати рН поживного середовища для ферментації, для цього використовуються титрувальний агент - 10 % розчин їдкого натру.

Приготування 10% розчину соляної кислоти. У колбу на 20 мл наливають 15 мл питної води, додають 5 мл соляної кислоти, перемішують.

Приготування 10% розчину їдкого натру. Для приготування 10% розчину NaOH нам необхідно взяти через об'ємо-ваговий дозатор 10 г їдкого натру та розбавити його 10 літрами води. Всі операції проводяться в спеціально підготовленому збірнику із сорочкою. Стерилізація відбувається за допомогою змійовика.

Приготування та стерилізація поживного середовища агару NBRC 802

Приготування та стерилізація поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в пробірках Для вирощування інокуляту потрібно приготувати 1550 мл поживного середовища.

На технічних вагах зважують компоненти згідно пропису, поступово підігрівають до 80°C , за постійного перемішування.

Приготування та стерилізація бульйону NBRC 802 у колбах

На технічних вагах зважують компоненти згідно пропису. Наважку переносять у колбу об'ємом 1500 мл, доливають 1246,8 мл питної води, перемішують, закривають ватно-марлевою пробкою і стерилізують при 112°C (0,15 МПа) протягом 30 хв в автоклаві.

Приготування та стерилізація поживного середовища бульйону NBRC 802 для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі

Для вирощування інокуляту потрібно приготувати 16,7 л поживного середовища.

Приготування і стерилізація поживного середовища Триптон-соевого

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

бульйону 545 (TSB) для виробничого біосинтезу

Колекційну культуру зберігають у пробірках зі скошеним агаризованим середовищем СА у холодильнику при температурі 4°C. Пересіви здійснюють кожні 3 місяці. Всі роботи за колекційною культурою проходять строго в стерильних умовах.

Одержання робочої культури

Робочу культуру штаму-продуцента отримують розсівами колекційної культури на чашки Петрі із сусло-агаром в асептичних умовах. Культуру на чашці Петрі вирощують при температурі 33,5°C протягом 24 год.

Вирощування робочої культури

Ізольовані колонії в асептичних умовах пересівають петлею у пробірки з агаром NBRC 802. Одна ізольована колонія засівається в одну окрему пробірку. Для пересіву використовують колонії, що знаходяться на відстані не менше 1 см одна від одної. Пробірки інкубують 24 год при температурі 33,5°C.

Вирощування культури в колбах на качалках

У колбу об'ємом 2 л вносять 1382,8 мл бульйону. Розчин перемішують і розливають по 150 мл в дванадцять стерильних качалочних колб об'ємом 750 мл. У пробірку з робочою культурою культурою, вирощену на агаризованому середовищі, асептично вносять 5 мл фізіологічного розчину, суспендують клітини (змивають культуру), стерильною піпеткою відбирають одержану суспензію клітин і вносять у колби з розлитим поживним середовищем. Одна пробірка використовується для засіву однієї колби. Культивування здійснюється у колбах на качалці (220 об/хв) при 33,5°C упродовж 48 год.

Під час культивування відбирають пробу для здійснення мікробіологічного контролю та визначення концентрації біомаси. Після завершення вирощування в асептичних умовах інокулят з 12 колб переносять в засівну колбу об'ємом 2 л, закривають пробкою, перемішують.

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

Вирощування культури в інокуляторі на 40 л

Для вирощування рідкого посівного матеріалу в інокуляторі, у простерилізований посівний апарат об'ємом 40 л вносять 14,898 л бульйону NBRC 802. Далі через засівний пристрій вносять посівний матеріал. Включають перемішуючий пристрій, вмикають аерацію, в рубашку інокулятора подають гарячу або холодну воду для регуляції температури.

Культивування здійснюють при температурі 26°C впродовж 48 год. Кожні 4-6 години відбирають пробу культуральної рідини для проведення мікробіологічного контролю та визначення концентрації біомаси.

Вирощування культури в ферментері

Для вирощування рідкого посівного матеріалу у посівний апарат об'ємом 3200 л вносять 1298,07 л триптон-соевого бульйону 545 (TSB), 730 мл етиленгліколю. Далі за допомогою труби перетискання передають посівний матеріал. Включають перемішуючий пристрій, вмикають аерацію, в рубашку інокулятора подають гарячу або холодну воду для регуляції температури. Культивування здійснюють при температурі 33,5°C впродовж 48 год. Кожні 4-6 години відбирають пробу культуральної рідини для проведення мікробіологічного контролю та визначення концентрації біомаси.

Культуру вирощують при перемішуванні 220 об/хв 24 год за температури 33,5°C. У процесі культивування, кожні 10 год, відбирають проби для здійснення мікробіологічного контролю та контролю показників росту та синтезу. Для контролю рН додають розчин NaOH або розчин соляної кислоти.

Проводять культивування протягом 96 год. У процесі культивування, кожні 10 год, відбирають проби для здійснення мікробіологічного контролю та контролю показників росту та синтезу. Для контролю рН додають розчин NaOH або розчин соляної кислоти. При досягненні концентрації цільового продукту 9,65 г/л культуральну рідину відправляють на виділення

Зберігання біомаси та культуральної рідини після біосинтезу

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

Культуральна рідина, що містить біомасу зберігається в металевому збірнику. Зберігається в асептичних умовах, щоб не було контамінування та псування продукту.

Виділення біомаси

Виділення біомаси проводять фільтруванням культуральної рідини. Культуральна рідина подається на фільтр-прес, відфільтровується при швидкості 0,3 м³ /год. Відфільтрована рідина подається на знешкодження відходів.

Осадження ферменту

Ефект осадження білків пов'язаний з тим, що в присутності органічного розчинника знижується активність води. Зі збільшенням концентрації розчинника знижується здатність води до сольватації заряджених гідрофільних молекул ферменту. Діелектрична постійна розчинника знижується, відбувається витіснення молекул води з поверхні білкової молекули та їх часткова імобілізація молекулою органічного розчинника внаслідок гідратації білка. Тому молекули води, розміщені на гідрофобних ділянках поверхні білка, можуть бути заміщені на молекули органічного розчинника. При цьому розчинність білків знижується, відбувається агрегування і осадження білкових молекул.

Агрегування білків відбувається під дією електростатичних і Ван-дер-Ваальсових сил, що виникають між окремими білковими молекулами. Гідрофобна взаємодія, ймовірно, має менше значення в результаті впливу органічних розчинників на неполярні ділянки білкової глобули.

Органічний розчинник, який використовують для осадження, повинен повністю змішуватися з водою і не зв'язуватися з ферментом. Найбільш широко для осадження ферментів використовуються етиловий спирт, ацетон і ізопропіловий спирт. Рідше застосовуються метанол, н-пропанол, діоксан, 2-метоксиетанол і інші спирти, кетон, ефіри та їхні суміші. При виборі розчинника необхідно пам'ятати про його можливу токсичність,

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

вибухонебезпечність і можливість регенерації. З урахуванням цього найбільш придатними для виробництва є етанол і ізопропанол, менше – ацетон. Найбільш перспективним вважається осадження ферментів ізопропанолом. Осадження білків здійснюється при порівняно низькій його концентрації (52 – 53%), і препарати містять на 40 – 45% менше баластних речовин, ніж за осадження ацетоном і особливо етанолом.

Промивка осаду

Промивка осаду здійснюється буферним розчином і водою очищеною.

Сушка ферменту

Сушіння біомаси здійснюють на стрічковій сушарці. Відділена біомаса з ферментом подається на стрічкову сушарку при температурі 80°C. Повітря забирається з вулиці за допомогою повітрозабірника на висоті 30 м, очищається фільтром грубої очистки, нагрівається за допомогою конвеєра до заданої температури та подається в апарат. У результаті сушіння виділяється вологе повітря, яке направляється на знешкодження відходів.

Фасування та паркування продукту

Подрібнений продукт фасується за допомогою фасувальної машини та направляється на карантинний склад, після проведення всіх контролів направляється на склад готової продукції.

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

6 КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ ВИРОБНИЦТВА

Згідно науково-технічної документації на підприємстві забезпечується контроль процесу виробництва та контроль готової продукції. Це здійснюється для забезпечення відповідності готової продукції вимогам. Упродовж всього процесу виробництва продукту, необхідно проводити контроль санітарного стану цехів та робочих місць, відповідність сировини, допоміжних матеріалів, та ін.

Визначення концентрації джерела азоту та вуглецю

Визначення джерела вуглецю. Метод визначення ґрунтується на окисненні редукуючих цукрів, сіллю двовалентної міді та прямому визначенні відновленої форми міді в присутності її окисненої форми.

Метод визначення: у термостійку конічну колбу вносять 25 мл досліджуваного розчину, в якому міститься 15-40 мг/100 мл редукуючих цукрів і додають 10 мл реактиву Мюллера. Колбу витримують 10 хв у киплячій водяній бані так, щоб рівень розчину був на 2-3 см нижчим, рівня води у бані. Дно колби не повинне торкатись дна бані. Після десяти хвилин кип'ятіння, колбу виймають з бані та швидко охолоджують до кімнатної температури. Розчин повинен мати голубе або зелене забарвлення. Наявність жовтого забарвлення вказує на недостатню кількість реактиву Мюллера. У цьому випадку дослід слід повторити. Після охолодження додають 5 мл оцтової кислоти і 5-20 мл розчину йоду концентрацією $C = 1/30$ моль/л. Колбу закривають пробкою і залишають на 2 хв при кімнатній температурі, періодично перемішуючи. Надлишок йоду титрують розчином $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ до появи блідо-жовтого забарвлення, надалі додають 2-3 мл 0,5% розчину крохмалю. титрування завершують після досягнення зеленого забарвлення розчину.

Паралельно проводять контрольний дослід за цією ж методикою, але без кип'ятіння. Вміст редукуючих цукрів розраховують з врахуванням того, що

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

1 мл витраченого на реакцію розчину йоду відповідає 1 мг інвертного цукру:

$$C = 100 \cdot (V1 - (V2 - V3))n / 1000 \cdot V$$

V1 – об'єм доданого розчину йоду, мл; V2 – об'єм розчину Na₂S₂O₃, витрачений на титрування в контрольному досліді, мл; V3 – об'єм розчину Na₂S₂O₃, витрачений на титрування в основному досліді, мл; n – ступінь розбавлення специфічного розчину; V – об'єм аналізованої проби, мл.

Визначення амінного азоту мідним способом.

Визначення амінного азоту мідним способом полягає в тому, що при взаємодії амінокислот з суспензією фосфату міді утворюються забарвлені в синій колір добре розчинні комплексні мідні солі амінокислот.

Хід визначення. У мірну колбу на 25 см³ беруть 2 см³ досліджуваного розчину, додають 2 краплі тимолфталейну і по краплях 0,5 н розчин гідроксиду натрію доводять до слабо-блакитного кольору (рН розчину 10,2). Після цього додають 10 см³ суспензії фосфату міді і добре перемішують. Після зникнення осаду слід додати ще 5 см³ суспензії. Розчин у колбі доводять водою до позначки, добре перемішують багаторазовим перевертанням колби і осад відфільтровують крізь щільний фільтр. Фільтрат повинен бути прозорим, цього досягають багаторазовим фільтруванням. З фільтрату беруть дві проби по 10 см³ у конічні колби для титрування, підкислюють 0,4 см³ концентрованої оцтової кислоти, додають 6 см³ 10 %-го розчину йодиду калію; йод, що виділився, титрують 0,01 н розчином гіпосульфату; 1 см³ крохмалю додають тоді, коли розчин, що титрують, стане солом'яно-жовтим. Множенням 0,28 мг на витрачений об'єм 0,01 н розчину гіпосульфату отримують кількість міліграмів амінного азоту у взятому об'ємі (10 см³) досліджуваного розчину. Якщо на титрування був взятий розчин відомої амінокислоти, порівнюють отриманий результат з теоретичним вмістом азоту в даній амінокислоті.

Визначення сторонньої мікрофлори.

Чистоту культуральної рідини визначають посівом її на різноманітні

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

середовища. Присутність бактерій групи кишкових паличок визначають посівом культуральної рідини в пробірки з середовищем Кесслер, посіви терmostатують при температурі при температурі 43-45oC протягом 24 год. Відсутність газу у пробірках свідчить про те, що культуральна рідина не забруднена БГК. Поява газоутворень свідчить про те можливе забруднення рідини цим видом бактерій. Для підтвердження наявності БГКП проводять посіви із пробірок де відмітили наявність газу на середовище Ендо малинових колоній з блиском відбирають мазки, фарбують за Грамом та мікроскопіюють. Наявність грам негативних паличок свідчить про присутність БГКП.

Для визначення наявності дріжджів та пліснявих грибів культуральну рідину висівають на чашки Петрі на сусло-агар, культивують при температурі 24 C.

Стрептококи виявляють на щільному середовищі з цитратом кальцію. Оцтовокислі бактерії визначають посівом розведень у стерильне знежирене молоко, культивують в терmostаті при 30 C протягом 24 год. Наявність жовтого кільця на поверхні молока свідчить про присутність оцтовокислих бактерій.

Відсутність мікробіоти.

Після стерилізації компонентів поживних середовищ, з кожного відбирають пробу, висівають на чашки Петрі з МПА та сусло агаром, терmostатують при температурі при температурі 34 C протягом 24 год. Готують препарат "роздавлена крапля", мікроскопіюють. При правильно проведеному режимі стерилізації, на чашці не має прорости жодної колонії.

Відсутність сторонньої мікробіоти.

Після засівання поживних середовищ посівним матеріалом, відбирають пробу, висівають на чашки Петрі з МПА та сусло агаром, терmostатують при температурі при температурі 34 C протягом 24 год. Готують препарат "роздавлена крапля", мікроскопіюють. На чашках з МПА не має прорости

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

жодної колонії, на чашці з сусло агаром - лише культура *Blakeslea trispora* [48].

Визначення концентрації біомаси

Частину відокремленої біомаси висушують при 105 °С до постійної маси в сушильній шафі і охолоджують до $1 \pm 0,5$ °С, зважують на аналітичних вагах. Відфільтрований осад переносять у бокс і зважують. За різницею мас отримують кількість біомаси.

Визначення концентрації цільового продукту

Близько 20 мг зібраної мокрої біомаси змішують з 1 мл етилацетату і руйнують на кульковій дробарці протягом 6 хв. Фермент екстрагують етилацетатом при кімнатній температурі, поки органічний екстракт не стане прозорим, вміст аналізують високоефективною рідинною хроматографією, з 1 мл / хв рухомою фазою при 25 ° С, при цьому рухома фаза складалась з: 3% ddH₂O в метанолі, що містить 0,05 М ацетату амонію (розчинник А); 100% ТВМЕ (розчинник Б). Обидва розчинники містили 0,1% (мас. / Об.) Бутильованого гідрокситолуолу та 0,05% (об. / об.) Триетиламіну. Вимивання проводимо за наступною схемою: ізократичне при 3% Б протягом 2 хв з лінійним градієнтом від 2% до 38% Б за 1 хв, ізократичне на 15% протягом 12 хв, лінійним збільшенням до 68% Б за 1 хв, ізократичне на 68% протягом 6 хв з подальшим лінійним зниженням до 3% Б через 4 хв. Фермент виявляємо шляхом вимірювання поглинання при 450 нм, а стандарт використовуємо для кількісного визначення.

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

7 АВТОМАТИЗАЦІЯ ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ

За схемою визначені наступні контури:

- 1 Контроль температури приладами встановленими «по місцю»
- 2 Контроль тиску пари
- 3 Контроль рН приладами встановленими «по місцю» (лічильники)
- 4 Контроль витрат рідини
- 5 Контроль тиску «по місцю»
- 6 Контроль обертів мішалки
- 7 Контроль виходу рідини

У першому контурі автоматичного контролю і управління необхідно контролювати і регулювати температуру, яка має регламентоване значення 112 С і має припустимі межі $\pm 20\text{C}$. Спостереження за зміною передбачається на АРМі оператора-технолога зі збереженням (реєстрацією) цих змін в його архіві. Для регулювання температури передбачається її стабілізація на заданому значенні за рахунок зміни витрати пари в «парову рубашку» апарата У даному контурі автоматизації передбачається як контроль так і управління.

Функціональну лінію зв'язку від датчика температури продовжуємо на прямокутники «ПЛК» і «ПК». Для спрощення роботи з зображенням ліній зв'язку на СА (щоб не було їх перетину), ця лінія має розрив, на кожному з кінців якої вказується цифра 1, за допомогою яких можна відрізнити цей розрив. На перетині цієї лінії зв'язку від датчика з функціональними лініями ПЛК та ПК крапками вказуємо функції, які повинні бути виконуватись ними у відповідності з завданням.

На ПЛК з сигналом від датчика показано виконання наступних функцій: - перетворення сигналу в цифрову форму (літера Y). Враховуючи, що від датчика температури подається аналоговий сигнал, крапку ставимо саме 133 на перетині вертикальної лінії (від датчика) з горизонтальною

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

лінією функцією ВА (перетворення аналогового вхідного сигналу в цифрову форму); - для показу, що інформація від датчика використовується для регулювання температури – крапку ставимо на перетині лінії від датчика з лінією літери С.

Після контролера перетворений сигнал від датчика подається на персональний комп'ютер ПК (АРМ оператора–технолога), де виконуються наступні функції: - контроль за значеннями температури на екрані АРМа оператора-технолога – крапка ставиться на перетині сигналу від датчика з лінією від літери І. - запис зміни значень температури архів (тренд), з можливістю його перегляду – крапка ставиться на перетині сигналу від датчика з лінією від літери R. - інформація про те, що в системі управління передбачена можливість зміни завданого значення технологічного параметра, налаштувань (параметрів) регулятора – крапка ставиться на перетині сигналу від датчика з лінією від літери С.

Регламентоване значення технологічного параметра (температури) проставляється на лінії зв'язку від датчика, біля першого прямокутника. У нашому випадку це значення 112 С. Зображення цього контуру контролю і управління наноситься на схему автоматизації

У другому контурі автоматичного контролю і управління, необхідно контролювати тиск пари в паровій рубашці апарату, який має регламентоване значення 0,15 МПа і має припустимі межі ± 20 кПа. Спостереження за зміною передбачається на АРМі оператора-технолога зі збереженням (реєстрація) цих змін в його архіві. Враховуючи, що вимірювання тиску відбувається безперервно в часі в певному діапазоні, тому необхідно розглядати приклади контролю в яких від датчика отримується аналоговий (неперервний) сигнал. При цьому сам датчик розташований «по місцю».. Для цього контуру безпосередньо біля технологічного апарату вказується тільки місце відбору параметра. Функціоналу лінію зв'язку від датчика тиску подаємо на прямокутники «ПЛК» і «ПК». На перетині цієї лінії зв'язку з

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

функціональними лініями ПЛК та ПК крапками вказуємо необхідні нам функції: На ПЛК з сигналом від датчика виконуються функція перетворення сигналу в цифрову форму (літера Y). Враховуючи те, що від датчика тиску подається уніфікований аналоговий сигнал, зображаємо крапку саме на перетині вертикальної лінії (від датчика) з горизонтальною лінією-функцією ВА (перетворення аналогового вхідного сигналу в цифрову форму). Після контролера перетворений сигнал від датчика подається на персональний комп'ютер ПК (АРМ оператора-технолога), де виконуються наступні функції: - відображення значення тиску на екрані АРМі оператора-технолога - крапка на перетині лінії зв'язку з функціональною літерою І; - запис зміни значень тиску в архів (тренд), який можна переглядати - крапка на перетині лінії зв'язку з функціональною літерою R).

У третьому контурі автоматичного контролю і управління, необхідно контролювати значення величини рН в технологічному апараті, який має регламентоване значення 6 рН і має припустимі межі $\pm 0,5$ рН. Спостереження за зміною передбачається на АРМі оператора-технолога зі збереженням (реєстрація) цих змін в його архіві. Для регулювання значенням величини рН передбачається його стабілізація на заданому значенні за рахунок зміни подачі окислювача в апарат . Для реалізації використовується датчик рН метр В четвертому контурі необхідно управляти роботою двигунів насосів подачі рідини в апарат. Для управління двигунами насосів пропонується використати приклад №29, зображення якого ми переносимо на схему автоматизації. Схемою передбачено: - управління з АРМа оператора включенням - відключенням насосів. - ручне управління з щита перетворювачів включенням - відключенням насосів; - аварійне відключення насосів кнопкою, розташованою «по місцю» біля насоса. Для управління з АРМа на схемі показана крапка на перетині лінії зв'язку з функціональною лінією ПК «літерою S». Крапка на перетині лінії зв'язку з функціональною лінією ПК «літерою І» показує, що стан насоса (включено-відключено»

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

відображається на АРМі оператора. Крапка на перетині лінії зв'язку з функціональною лінією ПЛК «літерою S» показує, що управління насосом відбувається саме з ПЛК, а саме через дискретні виходи ПЛК про що свідчить крапка на перетині лінії зв'язку з функціональною лінією ПЛК «ДВ» (дискретні виходи). Для забезпечення безаварійної роботи насосів необхідно використати елементи управління (кнопки «Пуск» та «Стоп») в «ручному режимі» з щита управління SB2, SB4 та безпосередньо біля насосів («по місцю») SB1, SB3. Для вибору місця з якого саме буде здійснюватись управління використовується тумблер SA1 та SA2 (перемикачі). Подача напруги на двигуни насосів здійснюється за допомогою магнітних пускачів KM1 та KM2. 136

В п'ятому контурі, передбачене вимірювання тиску відбувається безперервно в часі в певному діапазоні, тому необхідно розглядати приклади контролю в яких від датчика отримується аналоговий (неперервний) сигнал. Цьому завданню саме відповідає приклад №5, зображення якого ми переносимо на схему автоматизації. Для цього контуру безпосередньо біля технологічного апарату вказується тільки місце відбору параметра. Функціоналу лінію зв'язку від датчика тиску подаємо на прямокутники «ПЛК» і «ПК». На перетині цієї лінії зв'язку з функціональними лініями ПЛК та ПК крапками вказуємо необхідні нам функції: На ПЛК з сигналом від датчика виконуються функція перетворення сигналу в цифрову форму (літера Y). Враховуючи те, що від датчика тиску подається уніфікований аналоговий сигнал, зображаємо крапку саме на перетині вертикальної лінії (від датчика) з горизонтальною лінією-функцією ВА (перетворення аналогового вхідного сигналу в цифрову форму). Після контролера перетворений сигнал від датчика подається на персональний комп'ютер ПК (АРМ оператора-технолога), де виконуються наступні функції: - відображення значення тиску на екрані АРМі оператора-технолога - крапка на перетині лінії зв'язку з функціональною літерою I; - запис зміни значень

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

тиску в архів (тренд), який можна переглядати - крапка на перетині лінії зв'язку з функціональною літерою R). У шостому контурі автоматичного контролю і управління, необхідно контролювати кількість обертів мішалки в апараті, яка має значення 1500 об/хв і має припустимі межі ± 100 обертів. Спостереження за зміною передбачається на АРМі оператора-технолога зі збереженням (реєстрація) цих змін в його архіві. Для регулювання рівня передбачається його стабілізація на заданому значенні за рахунок подачі електроенергії для збільшення потужності мотора. 137 Враховуючи, що вимірювання кількості обертів відбувається неперервно в часі в певному діапазоні, тому необхідно розглядати приклади контролю в яких від датчика отримується аналоговий (неперервний) сигнал. При цьому сам датчик розташований «по місцю». Цьому завданню саме відповідає приклад №5, зображення якого ми переносимо на схему автоматизації. Для цього контуру безпосередньо біля технологічного апарату вказується тільки місце відбору параметра. Функціоналу лінію зв'язку від датчика тиску подаємо на прямокутники «ПЛК» і «ПК». На перетині цієї лінії зв'язку з функціональними лініями ПЛК та ПК крапками вказуємо необхідні нам функції: На ПЛК з сигналом від датчика виконуються функція перетворення сигналу в цифрову форму (літера Y). Враховуючи те, що від датчика тиску подається уніфікований аналоговий сигнал, зображаємо крапку саме на перетині вертикальної лінії (від датчика) з горизонтальною лінією-функцією ВА (перетворення аналогового вхідного сигналу в цифрову форму). Після контролера перетворений сигнал від датчика подається на персональний комп'ютер ПК (АРМ оператора-технолога), де виконуються наступні функції: - відображення значення тиску на екрані АРМі оператора-технолога - крапка на перетині лінії зв'язку з функціональною літерою I; - запис зміни значень тиску в архів (тренд), який можна переглядати - крапка на перетині лінії зв'язку з функціональною літерою R). У сьомому контурі передбачена відкачки рідини з технологічного апарату. Для управління двигунами насосів

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

також пропонуємо використати приклад №29, зображення якого ми переносимо на схему автоматизації. Схемою передбачено: - управління з АРМа оператора включенням - відключенням насосів. 138 - ручне управління з щита перетворювачів включенням - відключенням насосів; - аварійне відключення насосів кнопкою, розташованою «по місцю» біля насоса. Для управління з АРМа на схемі показана крапка на перетині лінії зв'язку з функціональною лінією ПК «літерою S». Крапка на перетині лінії зв'язку з функціональною лінією ПК «літерою І» показує, що стан насоса (включено-відключено» відображається на АРМі оператора. Крапка на перетині лінії зв'язку з функціональною лінією ПЛК «літерою S» показує, що управління насосом відбувається саме з ПЛК, а саме через дискретні виходи ПЛКІ про що свідчить крапка на перетині лінії зв'язку з функціональною лінією ПЛК «ДВ» (дискретні виходи).

Засоби автоматизації наведені в апаратурній схемі, специфікація засобів автоматизації - в таблиці 7.1.

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

Таблиця 7.1 – Засоби автоматизації

Позиція	назва параметру	місце установки	середовище контролю	найменування приладу	тип приладу	кількість	завод виробник
1-1 3-1	вага	за місцем	сировина	ваги		2	
2-1 4-1 5-1 6-1 7-1 8-1	температура	за місцем	сировина	термоперетворювач опорю платиновий	ТСП-50М	6	ПБЗ «Луцьк»
2-3 4-3 4-4 6-3 6-4 7-3 7-4		за місцем		підсилювач потужності	У24	7	МЗТА Москва
2-4 4-5 6-5 7-5		за місцем		механізм електричний однооборотний	МЕО У)/64-0,25-94	4	МЗТА Москва
9-1 10-1 11-1 12-1	Тиск	за місцем	стиснуте повітря, пара	тензометричний перетворювач тиску	сапфір - 22ДИ В	4	АТ «СП Манометр» Харків
2-2 4-2 6-2 7-2 9-2 10-2 11-2 12-2				мікропроцесорний процесор типу Реміконт	Р-130	2	ПБЗ «Полава»

8 ЗАБЕСПЕЧЕННЯ ЯКОСТІ ВИРОБНИЦТВА НА ПІДПРИЄМСТВІ

Пластик напочатку ХХ століття змінив життя людей на краще. З появою полімерних виробів у нашому житті з'явилися машини та літаки. Це дозволило зменшити вагу автомобіля та зменшити витрату палива, яке забруднює навколишнє середовище. Він зробив не меншу революцію в повсякденному житті. Пластикові харчова упаковка продовжує термін придатності. Так настала епоха процвітання у нашому житті. З пластику можна зробити майже все і в будь-яких кількостях. Цей полімер дуже дешевий і, отже, економічно вигідний. З одного боку, пластик вирішує багато земних проблем, а з іншого - створює багато нових. І головна проблема полягає в тому, що це дуже багато, а утилізація відсутня. В даний час 40% загального обороту пластмас виготовляється для одноразового використання, і майже половина загального обороту пластику зроблено за останні 15 років. На додаток до того, що пластик щороку вбиває мільйони морських мешканців, було встановлено, що деякі види перебувають на межі зникнення, і все це завдяки нашому комфорту. ООН назвала проблему "океанічним Армагедоном". За останні 25 років було помічено, що виробництво полімерних виробів збільшується, і в океані немає накопичень. Це говорить про те, що пластик розкладається на мільйони дрібних шматочків, які важко помітити. Ці шматочки називаються мікропластиками, які є скрізь і становлять ще більшу загрозу для живих істот, ніж накопичення в навколишньому середовищі; воно накопичується в самих живих організмах через воду і землю, де розкладається. Наприклад, 16% піску на Великому острові Гаваї - це мікропластик. Ці мікроскопічні частинки викликають велике занепокоєння, оскільки вони потрапляють у живий організм через їжу, осідають у легенях або кишечнику і залишаються там назавжди, отруюючи організм. В даний час заходи щодо зменшення відходів та

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

використання їх як вторинної сировини розробляються та впроваджуються у всіх країнах світу. Однак проблема сміття не зменшується, а постійно зростає. Побутові відходи, сміття - усі залишки споживання, що утворюються в житлових приміщеннях, організаціях, установах, а також сміття з вулиць, нових будівель тощо. Промислові відходи - залишки сировини або напівфабрикатів, що утворюються під час виготовлення виробів і які втратили свої корисні властивості в процесі фізико-хімічної обробки. Викидаючи сміття, люди порушують один з основних екологічних законів кругообігу - речовини в природі. Адже виводячи з природи багато речовин, людина б8 змінює їх до невпізнання і повертає природі у вигляді сміття, яке природним чином не розкладається на сировину. Коли більшість із нас залишає ганки багатоповерхівок, перше, що ми бачимо, - це звалища. Таке значне збільшення кількості відходів є насамперед результатом змін у способі життя людей та надзвичайного поширення одноразових предметів. Нерегулярне вивезення побутових відходів, їх накопичення в міських районах викликає неприємний запах і сприяє розмноженню мух - переносчиків різних інфекційних захворювань. Якщо не за рівнем життя, то принаймні за кількістю побутових відходів Україна не відстає від середньоєвропейського показника. Поступово наша країна перетворюється на смітник Європи. Щороку накопичується близько 10 млн. тонн сміття, близько 160 тисяч гектарів землі в Україні зайнято під смітники (це близько 700 смітників, що існують в кожному місті або селі). Замість того, щоб приносити прибуток і без того небагатій країні, мільйони тонн відходів отруюють землю, воду, повітря. За прогнозами як закордонних, так і вітчизняних фахівців, екологічна ситуація в Україні, без перебільшення, наближається до критичної, адже переробкою відходів у нас займаються на дуже низькому рівні. За даними Державної служби статистики України, в країні щорічно утворюється близько 500 мільйонів тонн відходів, включаючи відходи первинного виробництва (75%), відходи вторинного виробництва

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

(близько 19%), сільськогосподарські відходи (близько 3%) та тверді відходи (близько 3%). За підрахунками Євростату, загальна кількість відходів у 27 країнах-членах ЄС у 2012 р. Становила в середньому 4,8 т на душу населення, тоді як в Україні в 2013 р. Цей показник досяг 9,9 т на душу населення. Водночас слід зазначити, що в Україні на частку промислових відходів припадає до 95% від загальної кількості відходів. За даними Міністерства регіонального розвитку, будівництва та житлово-комунального господарства України, у 2013 році в країні було вироблено близько 59 мільйонів кубометрів. м або 13 млн. т твердих побутових відходів. Таким чином, частка твердих побутових відходів у загальній кількості відходів, що утворюються в Україні, може здатися незначною - 2-3%. Однак, незважаючи на невелику частку твердих побутових відходів у структурі відходів, ефективне функціонування цієї галузі є дуже важливим, бо оскільки це безпосередньо впливає на стан навколишнього середовища поблизу житлових районів. Крім того, перероблені відходи є додатковим джерелом сировини та енергії для національної економіки. Незважаючи на зменшення кількості населення, кількість твердих відходів, що утворюються в країні, поступово збільшується. За даними Державної служби статистики України, у період з 2000 по 2010 рік річний обсяг утворення твердих побутових відходів зріс на 70%. Однак слід зазначити, що система збору інформації про обсяги утворення твердих побутових відходів була запроваджена нещодавно. Через це деякі джерела кажуть, що він все ще має суттєві неточності. У 2000 р. В Україні в середньому було вироблено 180 кг ТПВ на душу населення, а в 2010 р. Цей показник зріс до 270 кг. Наразі в Україні працює лише одне з чотирьох сміттєспалювальних підприємств, побудованих ще за радянських часів, — Київський сміттєспалювальний завод, потужність якого становить 300 000 тонн на рік. Проте двадцятип'ятирічний строк експлуатації всіх цих підприємств уже сплинув. Окрім цього, функціонує дві мобільні сміттєспалювальні установки в Харкові та одна стаціонарна установка в

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

Харківській області. В окремих містах діє 21 лінія сортування відходів. Питання переробки використаних виробів із пластмас сьогодні є особливо напруженим. Однак фізичні та хімічні характеристики пластику вже були ретельно вивчені, а екологічні вимоги зросли, тому такий підхід призвів до появи різних методів переробки та переробки пластикових відходів та відходів. Україна лише починає свій шлях до повного розвитку культури сортування відходів. Кількість сміття, яке не сортується та не переробляється в нашій країні. Однак вже є свідомі громади, які сортують сміття. Більше того, нове покоління, яке вже звикло відокремлювати колекцію з дитинства, покладає великі надії. Загальні контейнери для пластика, скла, металу та паперу вже встановлюються. Зараз відомо, що багато різних відходів можна використовувати повторно. Для кожного виду сировини існує відповідна технологія переробки. Але навряд чи можна знайти щось більш поширене і водночас шкідливе, як пластик: він розкладається в природі більше 100 років, а при згорянні виділяє діоксин. Незважаючи на те, що в країні досі немає добре налагодженої та розвиненої інфраструктури роздільного збору, Україна має 70 достатньо потужностей для переробки цього виду відходів, і вони навіть недостатньо використані: якщо є можливість переробити 337 тис. Тонн пластику, то лише 180 тис. тонни таких відходів переробляються. В даний час в Україні переробляється лише 7% пластикових відходів, тоді як у Європі близько 70%. При аналізі відходів, які ще можна утилізувати в Україні, виявилось, що можна переробляти лише деякі види пластикових відходів, тому в Україні переробляють такі кольори пластику: напівпрозорий синій, зелений, коричневий, просто прозорий. Тоді як білі, жовті та чорні ПЕТ-пляшки взагалі не переробляються.

5.2. Шляхи вирішення накопичення пластику в Україні та світі

Полімерні відходи мають один з найдовших періодів розкладання з усіх неорганічних відходів, і їх використання людством зростає з розвитком полімерної промисловості. У той же час переробка та утилізація полімерних відходів дозволяє економити цінну

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

сировину та електроенергію. Щороку кількість сміття, що утворюється на Землі, збільшується на 3%. Згідно зі статистикою, людство повільно занурюється у відходи споживання. Однак будь-яку хімічну речовину можна багаторазово використовувати. Парадокс полягає в тому, що ми викидаємо те, що може бути для нас корисним. Щороку на сміттєзвалища висипається 3000 тонн побутових відходів, 95% з яких можна використовувати як вторинні матеріали. Аналіз показує, що майже половина відходів полімеру, що виробляються в Україні, є упаковкою.

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

9 ПЛАН ЦЕХУ ІЗ КОМПАНУВАННЯМ ОБЛАДНАННЯ

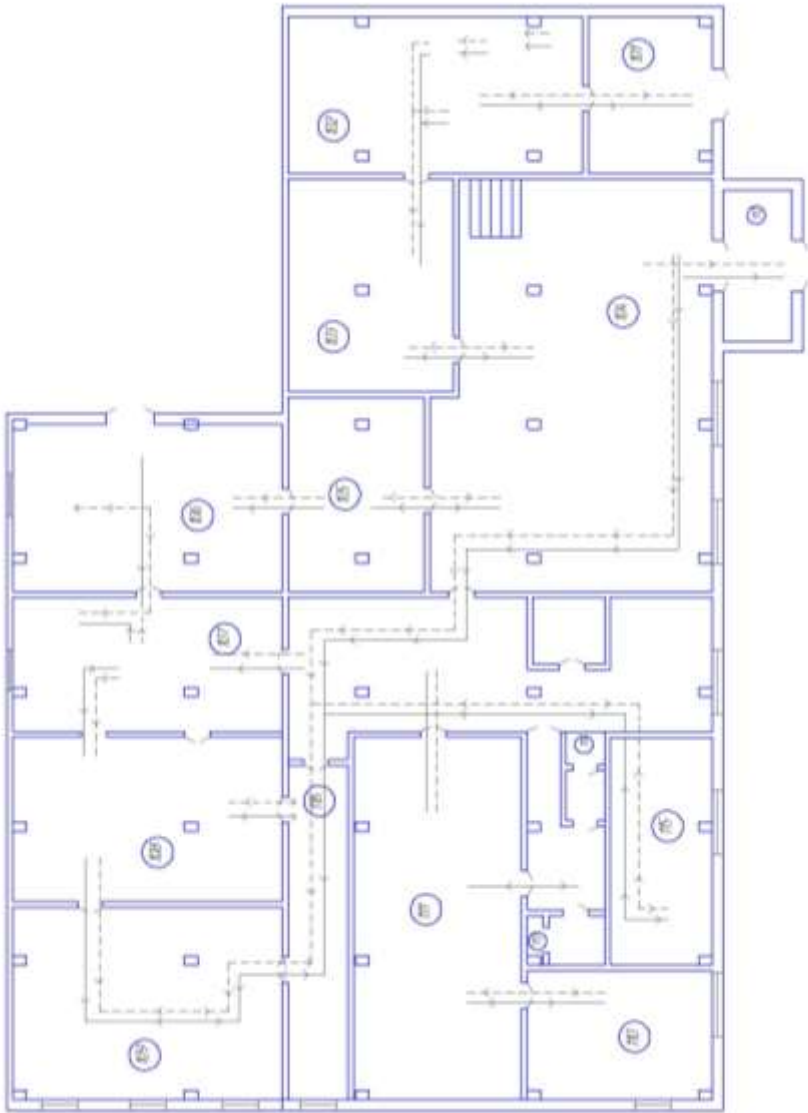


Рис. 9.1 – Цех виробництва ферментних препаратів

10 ЕКОНОМІЧНА ЧАСТИНА

В компанії «Ензім» виробництво ферменту ПЕТази планується здійснювати безперервно у 3 зміни тривалістю 8 годин кожна.

За рік передбачено випуск 17 серій продукту із розрахунку 20 кг у серії. Всього 34000 флаконів по 100мл.

Баланс часу роботи обладнання наведений в табл. 10.1.

Таблиця 10.1 - Баланс часу роботи обладнання

Фонд часу роботи обладнання	Мовні позначки	Показники	
		дні	години
Календарний	Φ_K	365	8760
Неробочий час:			
а) вихідні дні	$\Phi_{\text{вих}}$	104	2496
б) святкові дні	$\Phi_{\text{свят}}$	12	288
Номінальний	Φ_H	249	5976
Зупинки:			
а) на ремонт	$\Phi_{\text{рем}}$	15	360
б) з технологічних причин	$\Phi_{\text{тех}}$	15	350
Ефективний	Φ_e	219	5256

Виробнича потужність цеху:

$$M = 1 \times 6,5 \times 5256 = 34164 \text{ пак. /рік.}$$

Оскільки у цеху компанії планують випускати єдиний вид продукції - фермент ПЕТазу, визначимо питому вагу його випуску в загальному обсязі випуску:

$$\alpha = \frac{34000}{34164} \times 100 = 99,9\%$$

За даними розрахунку, потужність цеху за провідним обладнанням є достатньою для запланованого обсягу виробництва ПЕТази.

Вартість будівель та споруд приймається на рівні первинної вартості.

Вартість обладнання розраховується на основі специфікації, складеної при його виборі, та діючих оптових цін (табл. 10.2).

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

Таблиця 10.2 - Специфікація та вартість обладнання

Найменування обладнання	Кількість одиниць обладнання, шт	Вартість одиниці обладнання, грн	Загальна вартість обладнання, грн
Ваги	2	35000	70000
Збірники	2	87000	174000
Реактор	1	765200	765200
Ферментер	1	620000	620000
Екстрактор	2	142000	284000
Фільтр	2	46700	93400
Ліофільна установка	1	867400	867400
Осаджувальна центрифуга	2	653100	1306200
Шнековий прес	1	764200	764200
Інокулятор	2	452800	905600
Вакуум сушильна шафа	1	870000	870000
Лінія пакування Unista	1	1235000	1235000
Усього			7955000

У якості інвестицій для виробництва ферменту ПЕТази планується використовувати шнековий прес ФПК-2А замість дисмембратора. Все інше обладнання є вже фактично наявним в компанії і не потребує додаткового переоснащення.

При визначенні підсумкової вартості основного обладнання необхідно врахувати і вартість неврахованого обладнання, яке складає 20% від вартості основного обладнання. Результати розрахунку вартості обладнання і вартості будинків і споруд наведені в табл. 10.3.

Таблиця 10.3 - Підсумкова вартість основних засобів

№	Найменування статті	Вартість обладнання, грн
1	2	3
1	Вартість основного обладнання	7955000
1.1	Шнековий прес	764200
2	Невраховане обладнання	1591000
2.1	Шнековий прес	152840

3	Всього	9546000
3.1.	Шнековий прес	917040
4	Будинки та споруди	26845000
5	Всього	36391000

Таким чином, вартість основних засобів після переоснащення цеху складає 9546000 грн., в т.ч. вартість нового обладнання - 917040.

Таблиця 10.4 - Розрахунок зміни вартості основних засобів після переоснащення

№ п/п	Об'єкт	Вартість, грн		Приріст, грн
		за даними підприємства	за даними проекту	
1	Будівлі і споруди	26845000	26845000	---
2	Обладнання	8628960	9546000	+917040
4	Всього	35473960	36391000	+917040

Для розрахунку фонду оплати праці розрахуємо баланс робочого часу робітника (табл. 10.5.)

Таблиця 10.5 - Баланс робочого часу робітника

Витрата часу	Умовні позначення	Показники	
		Дні	Години
1	2	3	4
Календарний фонд робочого часу	Φ_k	365	2920
Кількість вихідних днів	$\Phi_{вих}$	105	840
Кількість святкових днів	$\Phi_{празд}$	8	64
Кількість неробочих днів	$\Phi_{н.р.}$	113	904
Номінальний фонд робочого часу	Φ_n	252	2016
Невиходи, які плануються	$\Phi_{нев}$	35	280
Тарифні відпустки	$\Phi_{отп}$	24	192
Хвороби	$\Phi_{бол}$	7,5	60
Декретні відпустки	$\Phi_{отп}$	2	16
Інші невиходи із дозволу адміністрації	$\Phi_{др}$	1,5	12
Кількість робочих днів		216	1728
Кількість передсвяткових днів, в які тривалість робочого дня зменшується на одну годину		7	7
Ефективний фонд робочого часу	Φ_e	216	1721

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

Розрахунок фонду оплати праці робітників цеху.

Основна заробітна плата розраховується з урахуванням кількості робітників, ефективного фонду робочого часу одного робітника та його ставки (табл. 10.6). Додаткова заробітна плата складає 60% фонду основної заробітної плати.

Таблиця 10.6 - Розрахунок чисельності і заробітної плати основних і допоміжних робітників

Професія	Кількість робітників	Розрахунок тарифної ставки, грн.		Розрахунок фонду оплати праці, грн		
		за год.	за зміну	основна заробітна плата	додаткова заробітна плата	фонд оплати праці
1	2	3	4	5	6	7
1 Основні робітники						
1.1. Оператор автоматичного обладнання	9	48,00	1152	743472	446083,2	1189555
1.2. Оператор лінії пакування	3	48,00	384	247824	148694,4	396518,4
1.3. Майстер зміни	3	57,00	456	294291	176574,6	470865,6
Разом	15			1285587	771352,2	2056939
2. Допоміжні робітники:						
2.1 Прибиральник	3	38,00	304	196194	117716,4	313910,4
2.2 Вантажник	3	40,00	320	206520	123912	330432
2.3. Слюсар-налогоджувальник	3	47,00	376	242661	145596,6	388257,6
Разом	9			645375	387225	1032600
Всього	24			1930962	1158577	3089539

Собівартість ферменту ПЕТази розраховується основі попередніх розрахунків. Розрахунок собівартості наведено в табл. 10.7 та 10.8.

Таблиця 10.7 - Розрахунок витрат на сировину та матеріали, (1000 фл.)

Найменування матеріалу	Од. вимір.	Норма витрат	Ціна за одиницю, грн	Сума, грн
1	2	3	4	5
Сировина та основні матеріали				
Зелена патока	кг	228	101	23028
Кукурудзяний екстракт	кг	129	167	21543
КН ₂ РО ₄	кг	9,27	73	676,71
Вітамін В1	кг	0,12	576	69,12
Сульфатна кислота	л	2,5	130	325
Борошно соєве	кг	28,842	75	2150,29
Борошно кукурудзяне	кг	58,938	60	3536,28
Середовище Андерсона	л	6	120	720
Сусловий агар	л	3	490	1470
β-іонон	кг	0,16	960	153,6
Розчин лугу	л	80	75	6000
етанол	л	40	70	2800
Всього				62472
Допоміжні матеріали				
Флакони	шт	1050	2,0	2100
Пробки	шт	1050	1,0	1050
Ковпачки	шт	1050	1,0	1050
Інструкції	шт	1050	0,5	525
Пачки	шт	1050	1,0	1050
Етикетки	шт	1050	0,5	525
Всього				6300

Таблиця 10.8 - Проектна калькуляція собівартості продукції. Найменування виробу - фермент ПЕТаза. Калькуляційна одиниця – 1000 фл.

№ п/п	Статті витрат	Сума, грн
1	2	3
1	Сировина та основні матеріали	62472
2	Допоміжні матеріали	6300
3	Транспортно-заготівельні витрати	3223,89
	Всього	71995,89

4	Заробітна плата	9086
4.1	Основна заробітна плата	5679
4.2	Додаткова заробітна плата	3407
5	Відрахування на соціальні заходи	2089,78
6	Загальновиробничі витрати	12098
7	Виробнича собівартість	95269,67
8	Адміністративні витрати	10283,3
9	Витрати на збут	4234,3
10	Інші операційні витрати	2117,15
11	Повна собівартість	111904,42
12	Договірна ціна	140000
13	Рентабельність, %	25

Прибуток від виробництва ферменту ПЕТази складе:

$$28095,58 \times 34 = 995249,72 \text{ грн.}$$

Продуктивність праці дорівнює:

$$B_{\text{п}} = 140000 \times 34 / 24 = 198333,33 \text{ грн./чол.}$$

Строк окупності дорівнює:

$$T = 917040 / 995249,72 = 0,92 \text{ року}$$

Чистий приведений дохід:

$$NPV = 995249,72 - 917040 = 78209,72 \text{ грн.}$$

Основні техніко-економічних показники проектного об'єкту наведені в табл. 10.10.

Таблиця 10.10 - Основні техніко-економічні показники проектного об'єкту

№ п/п	Показники	Од. вим.	Проектоване виробництво
1	2	3	5
1	Річний випуск	Тис. фл	34000
2	Капітальні витрати, пов'язані з впровадженням техніко-економічних заходів з урахуванням частки продукту	грн.	917040

6	Кількість працюючих:	чол.	24
7	- основні робітники	чол.	15
8	- допоміжні робітники	чол.	9
9	Продуктивність праці	грн/чол.	198333,33
10	Повна собівартість продукції	грн/тис. л	111904,42
11	Ціна відпускна	грн/тис. л.	140000
12	Прибуток	грн/тис. л.	28095,58
13	Рентабельність продукції	%	25
14	Чистий приведений ефект	грн.	78209,72
15	Строк окупності проєктованих заходів	рік	0,92

Техніко-економічні розрахунки виробництва ферменту ПЕТази свідчать про те, що:

- чистий приведений дохід становить 78209,72 грн.;
- впровадженні техніко-економічні заходи окупаються через 0,92 року;
- продуктивність праці складатиме 198333,33 грн./чол.;
- рентабельність продукції становитиме 25%.

Згідно цих даних виробництво ферменту ПЕТаза є економічно вигідним.

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

ВИСНОВКИ

1. Проаналізовано літературні джерела про підготовку та методи утилізації пластику та пластикових виробів в Україні. У ході аналізу було визначено, що ситуація в Україні з утилізацією пластику є складною. Не всі полімерні матеріали піддаються вторинній переробці і це призводить до накопичення пластикових побутових відходів на полігонах та сміттєзвалищах.

2. Нагромадження пластикових відходів негативно впливає на екологічний стан України. Саме під дією зовнішніх чинників пластик окислюється та викидає в навколишнє середовище парникові гази та забруднюючі речовини. Цей процес негативно впливає на екосистеми, сільськогосподарську продукцію, знижує якість життя у житлових районах, що живуть поблизу сміттєзвалищ, а також підвищує захворюваність населення.

3. Виявлено, що є організми та мікроорганізми, які вступають в процес біодеградації пластику та без шкоди навколишньому середовищу можуть утилізувати невеликі кількості пластикових виробів. До таких організмів відносять: апендикулярію, грам-негативні бактерії роду *Ideonella salaiensis*, *Aspergillus tubingensis*, личинки воскової молі роду *Galleria mellonella*. Серед перспективних методів для біодеградації пластикових відходів є використання ферменту ПЕТази, продуцентом якої є *Ideonella salaiensis*.

4. У роботі запропоновано технологію виробництва фермента ПЕТази на основі мікробного синтезу продуцента *Ideonella salaiensis* для реалізації на вітчизняному підприємстві, розроблено біологічну, технологічну, апаратурні схеми, складено план цеху.

5. Запропонована технологія є економічною та фінансово вигідною. Були розраховані основні економічні показники та проведено прогноз

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

терміну окупності капітальних вкладень у побудову цеху та запуску виробництва. З огляду на розрахунки, запропонована технологія виробництва є економічно вигідною для підприємства, та соціально важливою для людей через нагальну проблему утилізації пластикових відходів.

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

ЛІТЕРАТУРА

1. Krueger, M.C.; Harms, H.; Schlosser, D. Prospects for microbiological solutions to environmental pollution with plastics. *Appl. Environ. Microb.* 2015, 99, 8857–8874.
2. Acampora, H.; Berrow, S.; Newton, S.; O'Connor, I. Presence of plastic litter in pellets from Great Cormorant (*Phalacrocorax carbo*) in Ireland. *Mar. Pollut. Bull.* 2017, 117, 512–514.
3. Rillig, M.C.; Bonkowski, M. Microplastic and soil protists: A call for research. *Environ. Pollut.* 2018, 241, 1128–1131.
4. Li, J.; Yang, D.; Li, L.; Jabeen, K.; Shi, H. Microplastics in commercial bivalves from China. *Environ. Pollut.* 2015, 207, 190–195.
5. Jabeen, K.; Su, L.; Li, J.; Yang, D.; Tong, C.; Mu, J.; Shi, H. Microplastics and mesoplastics in fish from coastal and fresh waters of China. *Environ. Pollut.* 2017, 221, 141–149.
6. Song, J.J.; Yoon, S.C.; Yu, S.M.; Lenz, R.W. Differential scanning calorimetric study of poly (3-hydroxyoctanoate) inclusions in bacterial cells. *Int. J. Biol. Macromol.* 1998, 23, 165–173.
7. Ioakeimidis, C.; Fotopoulou, K.N.; Karapanagioti, H.K.; Geraga, M.; Zeri, C.; Papathanassiou, E.; Galgani, F.; Papatheodorou, G. The degradation potential of PET bottles in the marine environment: An ATR-FTIR based approach. *Sci. Rep.* 2016, 6, 23501.
8. Shimao, M. Biodegradation of plastics. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2001, 12, 242–247.
9. Shah, A.A.; Hasan, F.; Akhter, J.I.; Hameed, A.; Ahmed, S. Degradation of polyurethane by novel bacterial consortium isolated from soil. *Ann. Microbiol.* 2008, 58, 381–386.
10. Singh, B.; Sharma, N. Mechanistic implications of plastic degradation. *Polym. Degrad. Stab.* 2008, 93, 561–584.

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

11. Yang, J.; Yang, Y.; Wu, W.M.; Zhao, J.; Jiang, L. Evidence of polyethylene biodegradation by bacterial strains from the guts of plastic-eating waxworms. *Environ. Sci. Technol.* 2014, 48, 13776–13784.

12. Plastics Europe. An Analysis of European Plastics Production, Demand and Waste Data; Plastics Europe: Brussels, Belgium, 2018; pp. 46–49. Available online: <http://www.euro-plasticsrecycling.org>

13. Restrepo-Flórez, J.M.; Bassi, A.; Thompson, M.R. Microbial degradation and deterioration of polyethylene—A review. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 2014, 88, 83–90.

14. Pegram, J.E.; Andrady, A.L. Outdoor weathering of selected polymeric materials under marine exposure conditions. *Polym. Degrad. Stab.* 1989, 26, 333–345.

15. Jones, P.H.; Prasad, D.; Heskins, M.; Morgan, M.H.; Guillet, J.E. Biodegradability of photodegraded polymers I. Development of experimental procedures. *Environ. Sci. Technol.* 1974, 8, 919–923

16. Watanabe, M.; Kawai, F.; Shibata, M.; Yokoyama, S.; Sudate, Y. Computational method for analysis of polyethylene biodegradation. *J. Comput. Appl. Math.* 2003, 161, 133–144.

17. Yamada-Onodera, K.; Mukumoto, H.; Katsuyaya, Y.; Saiganji, A.; Tani, Y. Degradation of polyethylene by a fungus, *Penicillium simplicissimum* YK. *Polym. Degrad. Stab.* 2000, 72, 323–327. [

18. Bombelli, P.; Howe, C.J.; Bertocchini, F. Polyethylene bio-degradation by caterpillars of the wax moth *Galleria mellonella*. *Curr. Biol.* 2017, 27, 292–293.

19. SAI Global. Standard Practice for Determining Resistance of Plastics to Bacteria; ASTM G 22-76; SAI Global: Adelaide, Australia, 1996.

20. Sivan, A.; Szanto, M.; Pavlov, V. Biofilm development of the polyethylene-degrading bacterium *Rhodococcus ruber*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2006, 72, 346–352.

21. Dang, T.C.H.; Nguyen, D.T.; Thai, H.; Nguyen, T.C.; Hien Tran, T.T.;

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

Le, V.H.; Nguyen, V.H.; Tran, X.B.; Thao Pham, T.P.; Nguyen, T.G.; et al. Plastic degradation by thermophilic *Bacillus* sp. BCBT21 isolated from composting agricultural residual in Vietnam. *Adv. Nat. Sci. Nanosci. Nanotechnol.* 2018, 9, 015014

22. Mukherjee, S.; Chaudhuri, U.R.; Kundu, P.P. Bio-degradation of polyethylene waste by simultaneous use of two bacteria: *Bacillus licheniformis* for production of Bio-surfactant and *Lysinibacillus fusiformis* for Biodegradation. *RSC Adv.* 2016, 6, 2982–2992.

23. Brandon, A.M.; Gao, S.H.; Tian, R.; Ning, D.; Yang, S.S.; Zhou, J.; Wu, W.M.; Criddle, C.S. Biodegradation of polyethylene and plastic mixtures in mealworms (larvae of *tenebrio molitor*) and effects on the gut microbiome. *Environ. Sci. Technol.* 2018, 52, 6526–6533.

24. Mehmood, C.T.; Qazi, I.A.; Hashmi, I.; Bhargava, S.; Deepa, S. Biodegradation of low density polyethylene (LDPE) modified with dye sensitized titania and starch blend using *Stenotrophomonas pavanii*. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 2016, 113, 276–286.

25. Kyaw, B.M.; Champakalakshmi, R.; Sakharkar, M.K.; Lim, C.S.; Sakharkar, K.R. Biodegradation of low density polythene (LDPE) by *Pseudomonas* species. *Indian J. Microbiol.* 2012, 52, 411–419.

26. Skariyachan, S.; Patil, A.A.; Shankar, A.; Manjunath, M.; Bachappanavar, N.; Kiran, S. Enhanced polymer degradation of polyethylene and polypropylene by novel thermophilic consortia of *Brevibacillus* sps. and *Aneurinibacillus* sp. screened from waste management landfills and sewage treatment plants. *Polym. Degrad. Stab.* 2018, 149, 52–68.

27. Tribedi, P.; Sil, A.K. Low-density polyethylene degradation by *Pseudomonas* sp. AKS2 biofilm. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2013, 20, 4146–4153.

28. Tribedi, P.; Gupta, A.D.; Sil, A.K. Adaptation of *Pseudomonas* sp. AKS2 in biofilm on low-density polyethylene surface: An effective strategy for efficient survival and polymer degradation. *Bioresour. Bioprocess.* 2015, 2, 14.

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

29. Da Costa, J.P.; Nunes, A.R.; Santos, P.S.M.; Girao, A.V.; Duarte, A.C.; Rocha-Santos, T. Degradation of polyethylene microplastics in seawater: Insights into the environmental degradation of polymers. J. Environ. Sci. Health Part A Toxic Hazard. Subst. Environ. Eng. 2018, 53, 866–875.

30. Lwanga, E.H.; Thapa, B.; Yang, X.; Gertsen, H.; Salanki, T.; Geissen, V.; Garbeva, P. Decay of low-density polyethylene by bacteria extracted from earthworm's guts: A potential for soil restoration. Sci. Total Environ. 2018, 624, 753–757.

31. Kowalczyk, A.; Chyc, M.; Ryszka, P.; Latowski, D. Achromobacter xylosoxidans as a new microorganism strain colonizing high-density polyethylene as a key step to its biodegradation. Environ. Sci. Pollut. Res. Int. 2016, 23, 11349–11356.

32. Yoon, M.G.; Jeon, H.J.; Kim, M.N. Biodegradation of polyethylene by a soil bacterium and AlkB cloned recombinant cell. J. Bioremed. Biodegrad. 2012, 3, 145.

33. Balasubramanian, V.; Natarajan, K.; Hemambika, B.; Ramesh, N.; Sumathi, C.S.; Kottaimuthu, R.; Kannan, V.R. High-density polyethylene (HDPE)-degrading potential bacteria from marine ecosystem of Gulf of Mannar, India. Lett. Appl. Microbiol. 2010, 51, 205–211.

34. Agamuthu, P.; Faizura, P.N. Biodegradability of degradable plastic waste. Waste Manag. Res. 2005, 23, 95–100.

35. Cai, L.; Wang, J.; Peng, J.; Wu, Z.; Tan, X. Observation of the degradation of three types of plastic pellets exposed to UV irradiation in three different environments. Sci. Total Environ. 2018, 79, 740–747.

36. Montazer, Z.; Habibi-Najafi, M.B.; Mohebbi, M.; Oromiehei, A. Microbial degradation of UV-pretreated low-density polyethylene films by novel polyethylene-degrading bacteria isolated from plastic-dump soil. J. Polym. Environ. 2018, 26, 3613–3625.

37. Balasubramanian, V.; Natarajan, K.; Rajeshkannan, V.; Perumal, P.

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

Enhancement of in vitro high-density polyethylene (HDPE) degradation by physical, chemical, and biological treatments. Environ. Sci. Pollut. Res. Int. 2014, 21, 12549–12562.

38. Shahnawaz, M.; Sangale, M.K.; Ade, A.B. Bacteria-based polythene degradation products: GC-MS analysis and toxicity testing. Environ. Sci. Pollut. Res. Int. 2016, 23, 10733–10741.

39. Devi, R.; Kannan, V.; Natarajan, K.; Nivas, D.; Kannan, K.; Chandru, S.; Antony, A. The role of microbes in plastic degradation. In Environmental Waste Management; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 2015; pp. 341–370.

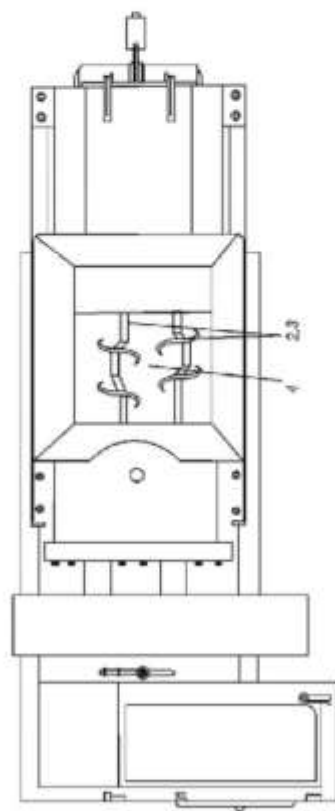
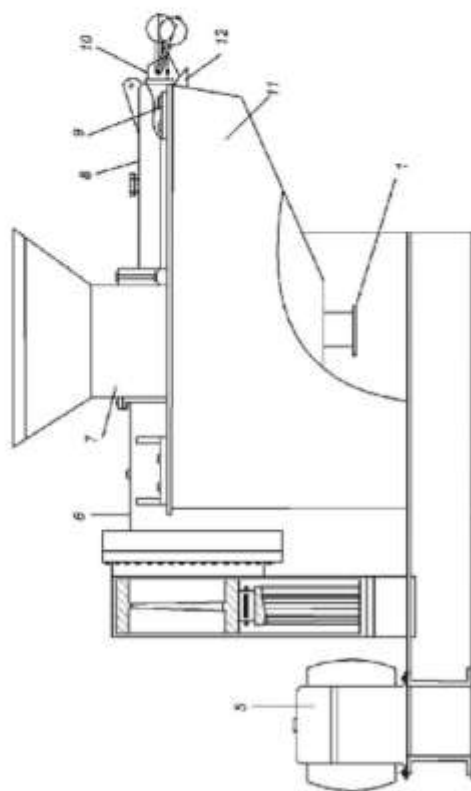
40. Pometto, A.L., III; Lee, B.; Jonhson, K.E. Production of an extracellular polyethylene-degrading enzyme(s) by Streptomyces species. Appl. Environ. Microbiol. 1991, 58, 731–733

41. Fujisawa, M.; Hirai, H.; Nishida, T. Degradation of polyethylene and Nylon-66 by the Laccase-mediator system. J. Polym. Environ. 2002, 9, 103–108.

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		

ДОДАТКИ

DATE RECEIVED	BY	FOR	DATE RECEIVED	BY
---------------	----	-----	---------------	----



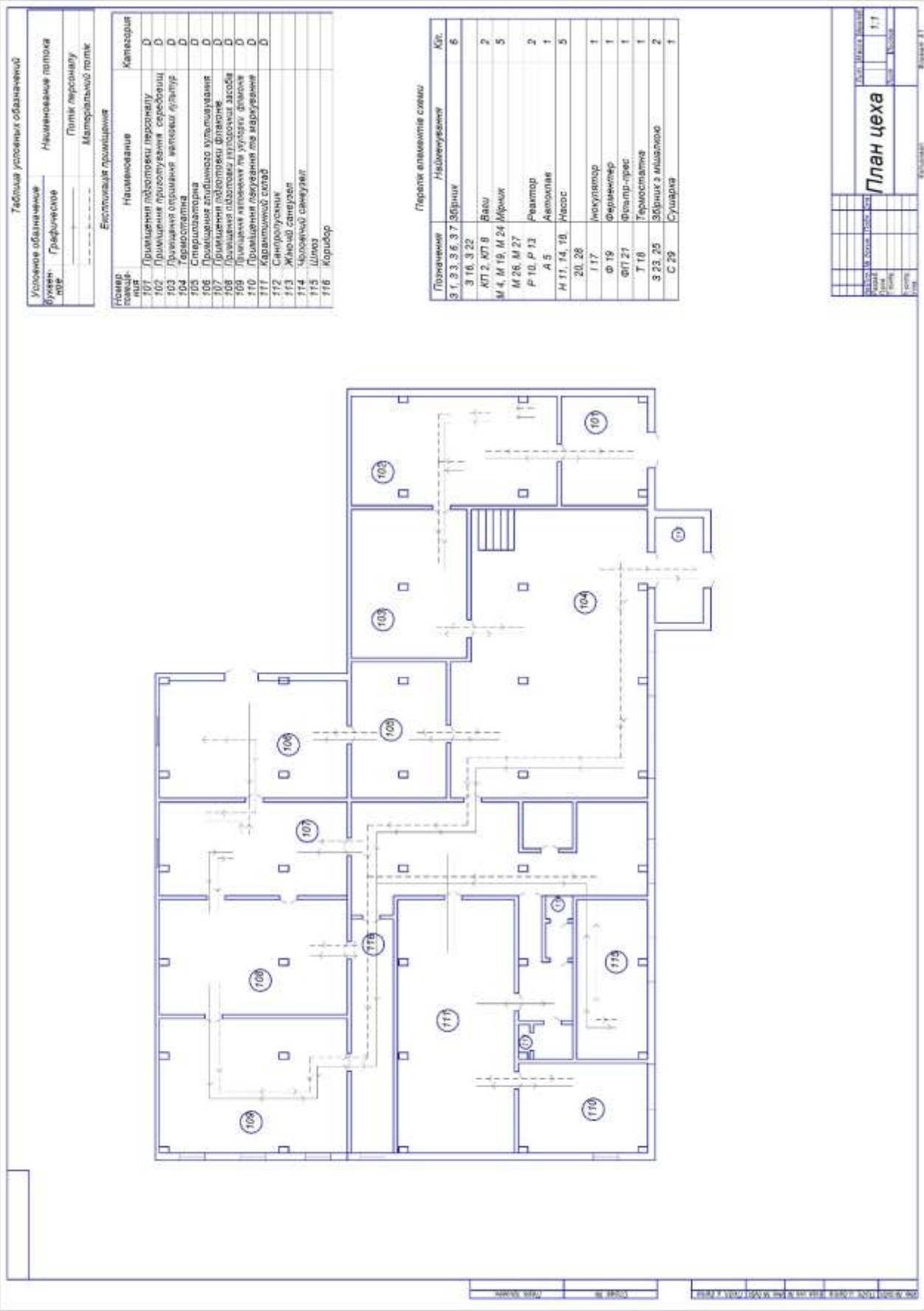
Технічна характеристика

Продуктивність	1400 кг/год
Потужність	10 кВт
Вага	750 кг
Число обертів шнеку	38,2 об/хв
Діаметр шнеку	160 мм

Перелік складових частин

№	Позиция	Наименование	Единица измерения
1		Шпатель для укладки фанеры	шт
2		Шпатель правый	шт
3		Шпатель левый	шт
4		Камера	шт
5		Электродрель	шт
6		Рефутор	шт
7		Бумер	шт
8		Кожух	шт
9		Камера адсорбционная	шт
10		Класс	шт
11		Стеллаж	шт
12		Домик	шт

[illegible]



Національний фармацевтичний університет

Факультет Фармацевтичних технологій та менеджменту
Кафедра Біотехнології
Ступінь вищої освіти бакалавр
Спеціальність 162 Біотехнології та біоінженерія
(шифр і назва)
Освітня програма Біотехнологія
(назва)

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувачка кафедри

Біотехнології

д. фарм. н., проф.

Наталя ХОХЛЕНКОВА

« 06 » лютого 2023 року

ЗАВДАННЯ
НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА ВИЩОЇ ОСВІТИ
Микита КОНОНОВ

(Ім'я, ПРІЗВИЩЕ)

1. Тема кваліфікаційної роботи Організація виробництва ферменту ПЕТази для деградації ПЕТ-пластику

керівник кваліфікаційної роботи Ольга КАЛЮЖНАЯ, кд.фарм. н., доц.

(Ім'я, ПРІЗВИЩЕ, науковий ступінь, вчене звання)

затверджений наказом НФаУ від « 01 » червня 2023 року № 127

2. Строк подання здобувачем вищої освіти кваліфікаційної роботи 19.06.2023

3. Вихідні дані до кваліфікаційної роботи об'єкт роботи – фермент ПЕТаза, отриманий мікробним синтезом, основний апарат – фільтр-прес

4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити) вступ, маркетингові дослідження, аналітичний огляд, характеристика готового продукту, сировини, матеріалів, напівпродуктів, технологічні розрахунки, опис технологічного процесу та схеми виробництва, автоматизація технологічного процесу, контроль якості виробництва, забезпечення якості виробництва, план цеху, економічна частина, висновок, література

5. Перелік графічного матеріалу (з точним зазначенням обов'язкових креслень) технологічна схема, апаратурна схема, креслення загального вигляду апарату, план цеху, таблиця порівняння основних техніко-економічних показників

6. Консультанти розділів кваліфікаційної роботи

Розділ	Ім'я, ПРІЗВИЩЕ, посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
Автоматизація технологічного процесу	Олександр МАНСЬКИЙ, доцент кафедри ТФП	10.02.2023	10.02.2023
Економічна частина	Ольга ГЛАДКОВА, доцент кафедри УЕЗЯФ	10.02.2023	10.02.2023

7. Дата видачі завдання 06.02.2023

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів кваліфікаційної роботи	Термін виконання етапів кваліфікаційної роботи	Примітка
1	Маркетингові дослідження	лютий 2023	Виконано
2	Опис технологічного процесу	лютий – березень 2023	Виконано
3	Аналітичний огляд. Характеристика готового продукту, сировини, матеріалів, напівпродуктів	березень 2023	Виконано
4	Технологічний розрахунок. Вибір обладнання	квітень 2023	Виконано
5	Матеріальний баланс	квітень 2023	Виконано
6	Розрахунок витрат води, пари, електроенергії	квітень 2023	Виконано
7	Складання апаратурної схеми виробництва та специфікації обладнання	травень 2023	Виконано
8	Складання схеми технологічного та біологічного процесу	травень 2023	Виконано
9	Контроль якості виробництва	травень 2023	Виконано
10	Забезпечення якості виробництва	травень 2023	Виконано
11	Автоматизація технологічного процесу	травень 2023	Виконано
12	Економічна частина	травень 2023	Виконано
13	Оформлення графічної частини	червень 2023	Виконано
14	Здача кваліфікаційної роботи	19.06.2023	Виконано

Здобувач вищої освіти

(підпис) Микита КОНОНОВ
(Ім'я, ПРІЗВИЩЕ)

Керівник кваліфікаційної роботи

(підпис) Ольга КАЛЮЖНАЯ
(Ім'я, ПРІЗВИЩЕ)

ВИТЯГ З НАКАЗУ № 127
по Національному фармацевтичному університету
від 01 червня 2023 року

Про затвердження тем кваліфікаційних робіт

1. Затвердити теми кваліфікаційних робіт, керівників-консультантів та рецензентів здобувачам вищої освіти 4 курсу, спеціальність – 162 Біотехнології та біоінженерія, освітня програма – Біотехнологія, ступінь вищої освіти – бакалавр, термін навчання – 3 р. 10 міс., денна форма здобуття освіти.

Прізвище, ім'я по батькові здобувача вищої освіти	Тема кваліфікаційної роботи (українською мовою)	Тема кваліфікаційної роботи (англійською мовою)	Керівник кваліфікаційної роботи	Рецензент кваліфікаційної роботи
Кононов Микита Денисович	Організація виробництва ферменту ПЕТази для деградації ПЕТ-пластику	Organization of production of PETase enzyme for degradation of PET plastic	Доцент закладу вищої освіти кафедри біотехнології, к.фарм.н, доцент Калюжная О.С.	К.фарм.н., доц., доц. кафедри технологій фармацевтичних препаратів Манський О.А.

В.о. ректора

Вікторія КУЗНЄЦОВА

Вірно:
Декан факультету фармацевтичних технологій та менеджменту



Наталія ЖИВОРА

ВИСНОВОК

**Комісії з академічної доброчесності про проведену експертизу
щодо академічного плагіату у кваліфікаційній роботі
здобувача вищої освіти**

№ 115307 від «8 » червня 2023 р.

Проаналізувавши випускну кваліфікаційну роботу за магістерським рівнем здобувача вищої освіти денної форми навчання Кононова Микити, 4 курсу, _____ групи, спеціальності 162 Біотехнології та біоінженерія, на тему: «Організація виробництва ферменту ПЕТази для деградації ПЕТ-пластику/ Organization of production of PETase enzyme for degradation of PET plastic», Комісія з академічної доброчесності дійшла висновку, що робота, представлена до Екзаменаційної комісії для захисту, виконана самостійно і не містить елементів академічного плагіату (копіляції).

**Голова комісії,
професор**



Інна ВЛАДИМИРОВА

2%

13%

ВІДГУК

керівника на кваліфікаційну роботу бакалаврського ступеня вищої освіти спеціальності 162 Біотехнології та біоінженерія

Микити КОНОНОВА

(Ім'я, ПРИЗВИЩЕ)

на тему: Організація виробництва ферменту ПЕТази для деградації ПЕТ-пластику

Актуальність теми В Україні вторинній переробці підлягає лише 12,5 % полімерних матеріалів. Це робить актуальним застосування нових рішень для деградації пластику. Такими рішеннями є використання каталізуючих можливостей ферменту ПЕТази, отримання якої наразі вивчено на основі штамів *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Streptomyces*, *Brevibacterium*, *Nocardia*, *Moraxella*, *Penicillium* і *Aspergillus*, виділених з природних джерел - з ґрунту, моря та мулу. Але поточні дослідження показали, що найкращими продуцентами є бактерії роду *Ideonella sakaiensis*, виділені у 2016 р. японськими вченими у ході скринінгу зразків ґрунту, води та мулу, взятих з місця переробки пляшок, що складаються з ПЕТ. Також, перспективні результати показали дослідження розпочаті у 2017 р. щодо використання для біодеградації пластикових відходів личинок великої воскової моли роду *Galleria mellonella*.

Практична цінність висновків, рекомендацій та їх обґрунтованість У роботі Проаналізовано літературні джерела про підготовку та методи утилізації пластику та пластикових виробів в Україні. Серед перспективних методів для біодеградації пластикових відходів є використання ферменту ПЕТази, продуцентом якої є *Ideonella salaiensis*. У роботі запропоновано технологію виробництва фермента ПЕТази на основі мікробного синтезу продуцента *Ideonella salaiensis* для реалізації на вітчизняному підприємстві, розроблено біологічну, технологічні, апаратурні схеми, складено план цеху. Запропонована технологія є економічною та фінансово вигідною. Були розраховані основні економічні показники та проведено прогноз терміну окупності капітальних вкладень у побудову цеху та запуску виробництва. З огляду на розрахунки, запропонована технологія виробництва є економічно вигідною для підприємства, та соціально важливою для людей через нагальну проблему утилізації пластикових відходів.

Оцінка роботи У роботі розглянуті всі необхідні розділи: маркетингові дослідження, аналітичний огляд, опис технологічного процесу; представлені технологічні розрахунки: матеріального балансу, основного та допоміжного обладнання, запропонованого ферментерами; за всіма вимогами виконанні необхідні креслення: технологічної схеми, апаратурної схеми, плану цеху, загальний вигляд ферменту.

Загальний висновок та рекомендації про допуск до захисту Робота містить всі необхідні розділи, виконана якісно, відповідно до інженерних та технологічних вимог до кваліфікаційних робіт бакалавра. Дана кваліфікаційна робота може бути представлена до захисту на засіданні Екзаменаційної комісії, а її автор заслуговує присвоєння кваліфікації «бакалавр з біотехнологій та біоінженерії».

Керівник

(підпис)

Ольга КАЛЮЖНАЯ

(Ім'я, ПРИЗВИЩЕ)

" 16 " червня 2023 р.

РЕЦЕНЗІЯ

на кваліфікаційну роботу Микити КОНОНОВА

(Ім'я, ПРІЗВИЩЕ)

на тему: Організація виробництва ферменту ПЕТази для деградації ПЕТ-пластику

Актуальність теми За лічені десятиріччя від початку пластикової промисловості людство виробило приблизно 9 млрд тонн цього матеріалу. Загалом у світі переробляють 20 % пластику, у Європейському Союзі – 42 %, а от в Україні - лише 12,5 %. Галузі переробки відходів, зокрема пластикових, є перспективною з точки зору інвестицій та соціальної відповідальності. Тому пошук та застосування нових технологій та стратегій деградації пластикових відходів є актуальною задачею, зокрема для фахівців біотехнологів.

Теоретичний рівень роботи У роботі на достатньо високому теоретичному рівні розглянуто проблеми утилізації пластикових відходів в світі та Україні та методи їхньої біодеградації. . Виявлено, що є організми та мікроорганізми, які вступають в процес біодеградації пластику та без шкоди навколишньому середовищу можуть утилізувати невеликі кількості пластикових виробів. До таких організмів відносять: апендикулярію, грам-негативні бактерії роду *Ideonella salaiensis*, *Aspergillus tubingensis*, личинки воскової молі роду *Galleria mellonella*.

Пропозиції автора по темі дослідження Серед перспективних методів для біодеградації пластикових відходів є використання ферменту ПЕТази, продуцентом якої є *Ideonella salaiensis*. У роботі запропоновано технологію виробництва фермента ПЕТази на основі мікробного синтезу продуцента *Ideonella salaiensis* для реалізації на вітчизняному підприємстві, розроблено біологічну, технологічні, апаратні схеми, складено план цеху.

Практична цінність висновків, рекомендацій та їх обґрунтованість Пропозиції автора щодо організації виробництва фермента ПЕТази може бути реалізовано на вітчизняному підприємстві і слугувати сировиною для смітєпереробному заводах.

Недоліки роботи Необхідно звернути увагу на оформлення списку літератури.

Загальний висновок і оцінка роботи Робота містить всі необхідні розділи, розрахунки та креслення, виконана відповідно до вимог та може бути представлена до захисту на засіданні Екзаменаційної комісії.

Рецензент _____

(підпис)

доцент Олександр МАНСЬКИЙ _____

(вчене звання, Ім'я, ПРІЗВИЩЕ)

«19» червня 2023 р.

ВИТЯГ З ПРОТОКОЛУ № 13

«19» червня 2023 року

м. Харків

Засідання кафедри біотехнології

Голова: завідувачка кафедри, доктор фармацевтичних наук, професор Наталя ХОХЛЕНКОВА.

Секретар: асистент закладу вищої освіти Аліна СОЛОВЙОВА.

ПРИСУТНІ: завідувачка кафедри Наталя ХОХЛЕНКОВА, професор закладу вищої освіти Леонід СТРЕЛЬНИКОВ, професор закладу вищої освіти Оксана СТРИЛЕЦЬ, доцент закладу вищої освіти Ольга КАЛЮЖНАЯ, доцент закладу вищої освіти Юлія АЗАРЕНКО, доцент закладу вищої освіти Наталія ДВІНСЬКИХ, асистент закладу вищої освіти Аліна СОЛОВЙОВА.

ПОРЯДОК ДЕННИЙ:

Про представлення до захисту до Екзаменаційної комісії випускних кваліфікаційних робіт.

I. СЛУХАЛИ:

Здобувача вищої освіти спеціальності 162 «Біотехнології і біоінженерія» ОП «Біотехнологія» денної форми 4 курсу 1 групи Микиту КОНОНОВА з доповіддю на тему «Організація виробництва ферменту ПЕТази для деградації ПЕТ-пластику» (керівник доцент закладу вищої освіти Ольга КАЛЮЖНАЯ).

УХВАЛИЛИ:

Рекомендувати до захисту кваліфікаційну роботу.

Голова

завідувачка кафедри,
доктор фармацевтичних наук,
професор

Наталя ХОХЛЕНКОВА

(підпис)

Секретар

асистент закладу вищої освіти _____ Аліна СОЛОВЙОВА

(підпис)

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

**ПОДАННЯ
ГОЛОВІ ЕКЗАМЕНАЦІЙНОЇ КОМІСІЇ
ЩОДО ЗАХИСТУ КВАЛІФІКАЦІЙНОЇ РОБОТИ**

Направляється здобувач вищої освіти Микита КОНОНОВ
(Ім'я, ПРІЗВИЩЕ)

до захисту кваліфікаційної роботи

за галуззю знань 16 Хімічна та біоінженерія

спеціальністю 162 Біотехнології та біоінженерія

Освітньою програмою Біотехнологія

на тему: «Організація виробництва ферменту ПЕТази для деградації ПЕТ-пластику»

Кваліфікаційна робота і рецензія додаються.

Декан факультету _____ Наталія ЖИВОРА

Висновок керівника кваліфікаційної роботи

Здобувач вищої освіти Микита КОНОНОВ рекомендується до захисту в Екзаменаційну комісію з кваліфікаційною роботою на тему: «Організація виробництва ферменту ПЕТази для деградації ПЕТ-пластику»

Керівник кваліфікаційної роботи _____ Ольга КАЛЮЖНАЯ

“16” червня 2023 року

Висновок кафедри про кваліфікаційну роботу

Кваліфікаційну роботу розглянуто. Здобувач вищої освіти Микита КОНОНОВ допускається до захисту даної кваліфікаційної роботи в Екзаменаційній комісії.

Завідувачка кафедри біотехнології _____ Наталя ХОХЛЕНКОВА

“19” червня 2023 року

Кваліфікаційну роботу захищено
у Екзаменаційній комісії

«21» червня 2023 р.

З оцінкою _____

Голова Екзаменаційної комісії,
кандидат сільськогосподарських наук

_____ / Олена ЩЕРБАК /