

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
Факультет медико-фармацевтичних технологій
Кафедра біотехнології

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

**на тему: «ТЕХНІЧНЕ ПЕРЕОСНАЩЕННЯ ВИРОБНИЦТВА ФЕР-
МЕНТНОГО ПРЕПАРАТУ НА ОСНОВІ АЛЬФА-АМІЛАЗИ БАК-
ТЕРІЙНОЇ»**

Виконав : здобувачка вищої освіти групи БТб22(3,1д)-01а
спеціальності 162 Біотехнології та біоінженерія
освітньої програми Біотехнологія

Інна КРИВОБОК

Керівник: Завідувачка кафедри біотехнології, д.фарм.н, профе-
сор Наталя ХОХЛЕНКОВА

Рецензент: Доцент закладу вищої освіти кафедри біотехнології,
біофізики та аналітичної хімії Національного технічного універ-
ситету «Харківський політехнічний інститут»,
к.б.н., доц. Ірина БЕЛИХ

АНОТАЦІЯ

Кваліфікаційна робота присвячена технічному переоснащенню виробництва ферментного препарату α -амілази бактеріальної високотемпературної «Альфалад БТ» на ПрАТ «ENZIM Biotech» шляхом заміни основного виробничого ферментера на сучасний апарат об'ємом 10 м³ для глибинного культивування штаму-продуцента *Bacillus licheniformis*. У роботі складено матеріальний баланс виробництва, виконано конструктивний розрахунок ферментера, обрано допоміжне обладнання, розроблено технологічну та апаратурну схеми, систему контролю критичних точок виробництва, проаналізовано екологічні аспекти. Робота складається зі вступу, трьох розділів, висновків, списку літератури з 33 джерел та додатків. Загальний обсяг роботи становить 91 сторінку, містить 8 рисунків, 16 таблиць та 2 креслення формату А1.

Ключові слова: α -амілаза, *Bacillus licheniformis*, ферментер, технічне переоснащення, біосинтез, ультрафільтрація, GMP, Альфалад БТ.

ANNOTATION

The qualification work is devoted to the technical re-equipment of the production of bacterial high-temperature α -amylase enzyme preparation "Alphalad BT" at "ENZIM Biotech" PJSC by replacing the main industrial fermenter with a modern 10 m³ apparatus for submerged cultivation of the producer strain *Bacillus licheniformis*. The work includes the material balance, structural calculation of the fermenter, selection of auxiliary equipment, development of technological and equipment schemes, the system of critical control point monitoring, and an analysis of environmental aspects. The work consists of an introduction, three chapters, conclusions, a list of references from 33 sources, and appendices. The total volume is 84 pages, contains 8 figures, 16 tables, and 2 A1 format drawings.

Key words: α -amylase, *Bacillus licheniformis*, fermenter, technical re-equipment, biosynthesis, ultrafiltration, GMP, Alphalad BT.

ЗМІСТ

Вступ.....	4
1 Аналітичний огляд.....	7
2 Характеристика готового продукту, сировини, матеріалів, напівпродуктів.....	23
2.1 Характеристика готового продукту.....	23
2.2 Характеристика сировини, матеріалів, напівпродуктів	26
2.3 Характеристика біологічного об'єкту.....	31
2.4. Біосинтез цільового продукту.....	34
3 Технологічна частина.....	39
3.1 Розрахунок матеріального балансу.....	39
3.2 Розрахунок і вибір технологічного обладнання (із кресленням основного апарату).....	47
3.3 Опис технологічного процесу.....	55
3.4 Схеми виробництва (зі специфікацією обладнання).....	67
3.5 Критичні параметри виробництва.....	73
3.6 Екологічні аспекти виробництва.....	82
Висновок.....	90
Список використаної літератури.....	92
Додатки.....	96

					<i>162.01.04.00 000 ПЗ</i>			
<i>Змн.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Да-</i>	<i>Технічне переоснащення виробництва ферментного препарату на основі альфа-амілази бактерійної</i> <i>Пояснювальна записка</i>	<i>Літ.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Розробив</i>		<i>Кривобок І.М.</i>					1	84
<i>Перевірів</i>		<i>Хохленкова Н.В.</i>						
<i>Н. контр.</i>						<i>НФаУ</i> <i>Кафедра біотехнології</i>		
<i>Затвердив</i>		<i>Хохленкова Н.В.</i>						

ВСТУП

Актуальність теми. α -Амілаза – один з найважливіших промислових ферментів, що знаходить широке застосування у крохмале-патоковій, харчовій, спиртовій, пивоварній, текстильній, целюлозно-паперовій та фармацевтичній галузях. Сучасний світовий ринок ферментних препаратів становить близько 7 млрд доларів США, з яких частка α -амілаз – понад 25 %. Основними виробниками є компанії Novozymes (Данія), DuPont/IFF (США), DSM (Нідерланди), АВ Enzymes (Фінляндія), Amano Enzyme (Японія), які домінують на світовому ринку завдяки використанню високопродуктивних штамів-продуцентів та сучасних технологій виробництва.

В Україні ферментні препарати протягом тривалого часу здебільшого імпортувалися. Однак в умовах сучасних геополітичних викликів та політики імпортозаміщення особливого значення набуває розвиток вітчизняного виробництва промислових ферментів. ПрАТ «ENZIM Biotech» (м. Ладижин, Україна) є одним з провідних вітчизняних виробників ферментних препаратів та випускає лінійку препаратів α -амілаз, протеаз, ксиланаз, целюлаз. Ферментний препарат «Альфалад БТ» (α -амілаза бактеріальна високотемпературна), що виробляється на підприємстві культивуванням штаму-продуцента *Bacillus licheniformis*, широко застосовується у спиртовому виробництві, виробництві крохмальних паток та глюкозо-фруктозних сиропів, де унікальною перевагою цього ферменту є його термостабільність – здатність зберігати активність за температур 90–105 °С, що відповідає умовам розрідження крохмалю на промислових установках.

Тема роботи є актуальною з точки зору як технологічного, так і економічного та екологічного аспектів і відповідає пріоритетам розвитку вітчизняної біотехнологічної галузі.

Мета роботи – технічне переоснащення виробництва ферментного препарату α -амілази бактеріальної високотемпературної «Альфалад БТ» на ПрАТ «ENZIM Biotech» шляхом заміни основного виробничого ферментера на сучасний апарат об'ємом 10 м³ з обґрунтуванням його конструкції, розроб-

					162.01.03.00 000 ПЗ	Арк.
						4
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

кою технологічної та апаратурної схем виробництва, систем контролю якості та аналізом екологічних аспектів.

Для досягнення поставленої мети необхідно вирішити такі завдання:

1) виконати аналітичний огляд науково-технічної літератури, патентний пошук щодо сучасних методів виробництва α -амілаз та конструкцій ферментаційного обладнання промислового призначення;

2) охарактеризувати штам-продуцент *Bacillus licheniformis*, сировину, проміжні продукти, готовий ферментний препарат «Альфалад БТ» та вимоги до них згідно з нормативно-технічною документацією;

3) розрахувати матеріальний баланс виробництва на одну виробничу серію з визначенням витрат сировини, виходу проміжних продуктів, кількості відходів та газоповітряних викидів;

4) розробити технологічну та апаратурну схеми виробництва з визначенням послідовності стадій, основних апаратів, потоків сировини та напівпродуктів, місць утворення відходів;

5) розробити систему контролю критичних точок виробництва на стадіях вхідного, постадійного (міжопераційного) та вихідного контролю готового продукту відповідно до вимог GMP та принципів HACCP;

6) проаналізувати екологічні аспекти виробництва – характеристику відходів, методи їх знешкодження та утилізації, заходи з охорони довкілля відповідно до ДСТУ ISO 14001:2015;

7) узагальнити отримані результати, сформулювати висновки щодо ефективності запропонованих технологічних рішень з технічного переоснащення виробництва.

Об'єкт дослідження – ферментний препарат α -амілази бактеріальної високотемпературної «Альфалад БТ» виробництва ПрАТ «ENZIM Biotech» (м. Ладижин, Україна).

Предмет дослідження є технологічний процес виробництва ферментного препарату α -амілази бактеріальної високотемпературної «Альфалад БТ»

									Арк.
									5
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	162.01.03.00 000 ПЗ				

методом глибинного періодичного культивування штаму-продуцента *Bacillus licheniformis* на ПрАТ «ENZIM Biotech» (м. Ладижин, Україна).

Методи дослідження. Аналітичний та критичний огляд науково-технічної літератури і патентної інформації; інженерні розрахунки матеріального та теплового балансів; конструктивні розрахунки технологічного обладнання за загальноприйнятими методиками хімічного та біотехнологічного машинобудування.

Практичне значення одержаних результатів. Запропоновані у роботі технологічні та технічні рішення з переоснащення виробництва ферментного препарату «Альфалад БТ» – сучасний ферментер 10 м³ з ефективною системою масопередачі та терморегулювання, високопродуктивний дисковий сепаратор ALFA LAVAL SA 45, тангенціальна ультрафільтраційна установка з керамічними мембранами 10 кДа та автоматизована фасувальна лінія – забезпечують підвищення продуктивності виробничої лінії, зниження питомих витрат енергії. Отримані результати можуть бути використані для подальшого впровадження на діючому виробництві ПрАТ «ENZIM Biotech» або як методична основа при розробці аналогічних виробничих ліній з виготовлення промислових ферментних препаратів.

За темою роботи опубліковано тези:

1. Кривобок І.М. Сучасні підходи до отримання бактеріальної α -амілази та її промислове застосування / Кривобок І.М., наук. кер.: Хохленкова Н. В. // Актуальні питання створення нових лікарських засобів: мат. XXXII між-нар. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів (15-17 квітня 2026 р., м. Харків). – Харків: НФаУ, 2026. – С. 158-159.

					162.01.03.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		6

1 АНАЛІТИЧНИЙ ОГЛЯД

1.1 Загальна характеристика альфа-амілаз та їх місце серед промислових ферментів

Ферментна промисловість є одним із найдинамічніших секторів сучасної біотехнології. Промислові ферменти знаходять застосування в харчовій, фармацевтичній, текстильній, целюлозно-паперовій та багатьох інших галузях, забезпечуючи більш екологічно безпечні та енергоефективні виробничі процеси порівняно з традиційними хімічними підходами [1]. Серед промислових ферментів особливе місце займають амілолітичні ферменти – амілази, що каталізують гідроліз крохмалю та суміжних полісахаридів.

Альфа-амілаза (α -1,4-глюкан-4-глюканогідролаза, КФ 3.2.1.1) є ферментом класу гідролаз, що здійснює ендогідроліз α -1,4-глікозидних зв'язків у молекулах крохмалю, глікогену та споріднених полісахаридів з утворенням декстринів різного ступеня полімеризації, мальтози та глюкози [1]. На відміну від β -амілази (екзогідролаза, відщеплює мальтозу з нередукуючого кінця) та глюкоамілази (гідролізує як α -1,4-, так і α -1,6-зв'язки), альфа-амілаза атакує внутрішні зв'язки ланцюга, що зумовлює різкий і швидкий спад в'язкості крохмальних суспензій – ефект, критично важливий для більшості промислових застосувань [4].

Крохмаль, основний субстрат альфа-амілази, складається з двох полімерів глюкози – амілози та амілопектину, що становлять у сукупності 98–99% його сухої маси. Амілоза є лінійним водонерозчинним полімером глюкозних залишків, з'єднаних α -1,4-глікозидними зв'язками, тоді як амілопектин являє собою розгалужений водорозчинний полісахарид з лінійними ланцюгами по 10–60 залишків глюкози та α -1,6-зв'язаними бічними ланцюгами [4]. Альфа-амілаза гідролізує як амілозу, так і амілопектин, хоча доступ до α -1,6-точок розгалуження є обмеженим і потребує додаткової дії дебранчінгових ферментів.

З біохімічної точки зору альфа-амілаза є металоферментом. Іони кальцію (Ca^{2+}), координовані в активному центрі, виконують структурну та

									Арк.
									7
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	162.01.03.00 000 ПЗ				

каталітичну функції, забезпечуючи термодинамічну стабільність молекули [3]. Молекулярна маса різних альфа-амілаз варіює від 48 до 60 кДа, іноді сягаючи 112 кДа для окремих мікробних форм. Просторова організація молекули включає три функціональних домени: домен А з консервативним $(\beta/\alpha)_8$ -бочкоподібним складанням – основний каталітичний домен; домен В, що відповідає за субстратну специфічність та термостабільність; домен С, що стабілізує структуру каталітичного домену [4]. Детальна тривимірна структура альфа-амілази *Bacillus licheniformis* (BLA) вперше визначена Machius et al. (1998) методом рентгеноструктурного аналізу з роздільною здатністю 1,9 Å і показала, що кальцій-натрій-кальцієвий метало-тріад є ключовим для утворення впорядкованої конформації активного центру [3].

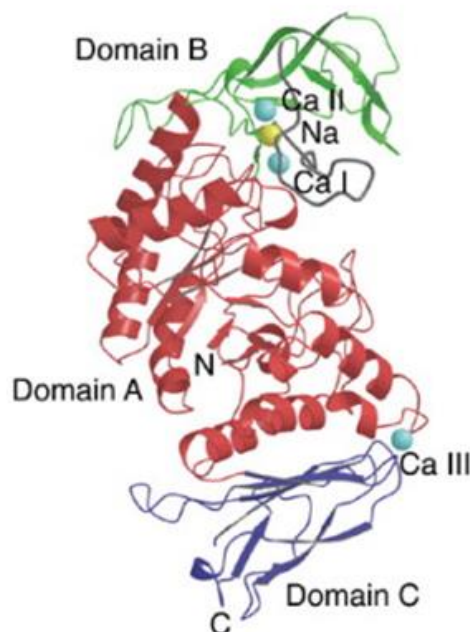


Рис. 1.1 Загальна структура молекули альфа-амілази *Bacillus licheniformis* (BLA): домен А (червоний) – каталітичний $(\beta/\alpha)_8$ -бочонок; домен В (зелений) – визначає субстратну специфічність; домен С (синій) – стабілізуючий; іони Ca^{2+} показано блакитним. Адаптовано з: Machius et al., 1998 [3]

Альфа-амілаза посідає провідне місце серед промислових ферментів, займаючи близько 25–30% загального ринку ферментних препаратів [7]. Ця частка зумовлена не тільки масштабом споживання крохмалю в промисловості, а й унікальною здатністю термостабільних бактеріальних форм ферменту зберігати активність при температурах, що перевищують точку клей-

									162.01.03.00 000 ПЗ	Арк.
										8
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата						

стеризації крохмалю. Саме ця властивість відкрила шлях до одностадійних технологічних процесів ліквефакції без попереднього охолодження субстрату, що значно підвищило ефективність виробництва [7].

1.2 Стан та тенденції розвитку світового ринку альфа-амілаз

Ринок альфа-амілаз є одним із найбільш стабільно зростаючих сегментів глобального ринку промислових ферментів. За даними Persistence Market Research (2025), сукупний обсяг світового ринку альфа-амілаз оцінюється у 2,2 млрд дол. США у 2025 році, а до 2032 року прогнозується його зростання до 3,4 млрд дол. США при середньорічному темпі приросту (CAGR) 6,1% [8]. Для порівняння, у 2019–2024 роках середньорічний темп зростання становив 5,2%, що свідчить про прискорення ринкової динаміки [8].

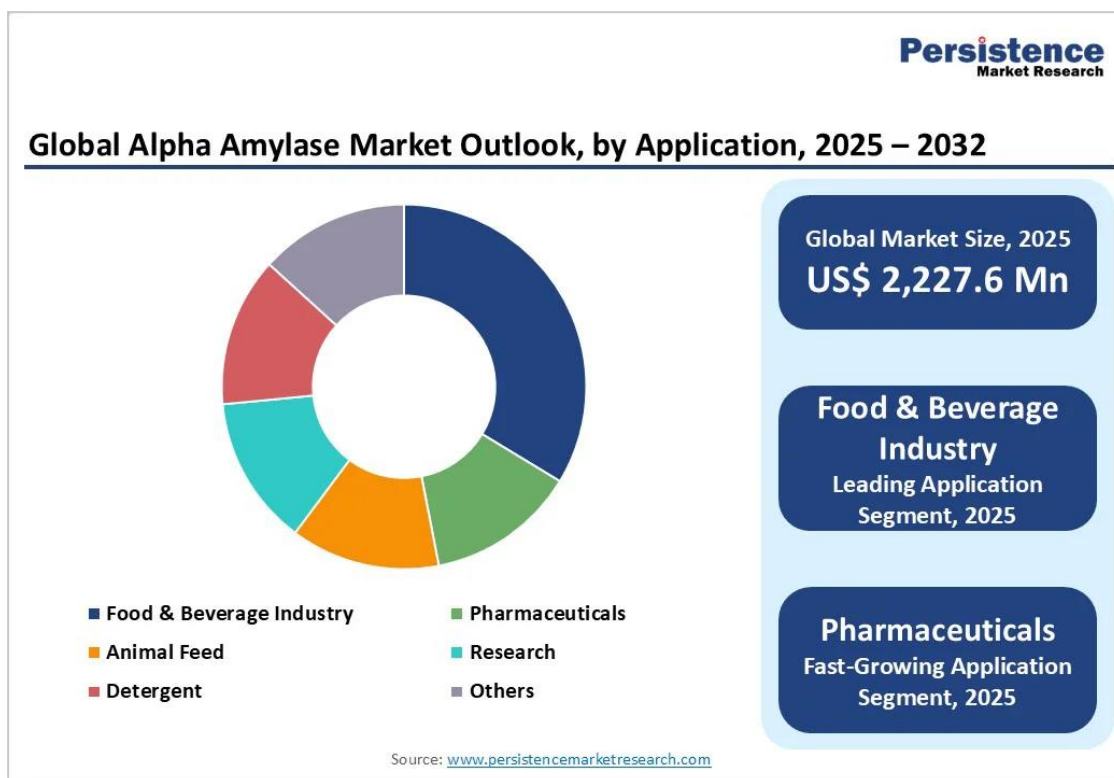


Рис. 1.2 Структура світового ринку альфа-амілаз за галузями застосування, 2025–2032 рр. Адаптовано з: Persistence Market Research, 2025 [8]

Структура ринку за галузями застосування характеризується домінуванням харчової промисловості та виробництва напоїв, на які у 2025 році припадає понад 60% загального попиту [8]. Фармацевтичний сектор є

										Арк.
										9
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	162.01.03.00 000 ПЗ					

найшвидше зростаючим сегментом застосування завдяки розширенню досліджень ензимотерапії та зростаючому попиту на функціональне харчування [8]. Хлібопекарський підсегмент демонструє особливо високий темп зростання – близько 7,3% на рік; ринок хлібопекарських амілаз у 2023 р. оцінювався в 331 млн дол. США з прогнозом досягнення 423 млн дол. США до 2030 р. [9]. Регіональний розподіл ринку відзначається лідерством Європи, частка якої у 2025 р. становить близько 28% за обсягом [8]. Проте найвищий темп зростання демонструє Азійсько-Тихоокеанський регіон – CAGR близько 8,4% до 2032 р., що обумовлено інтенсивним розвитком харчової та спиртової промисловості в Китаї, Індії та Південно-Східній Азії [8]. Ринок Північної Америки залишається значним завдяки розвиненій харчопереробній промисловості та потужному виробництву біоетанолу.

Розподіл ринку за джерелами походження ферменту свідчить про домінування бактеріальних препаратів – їх частка становить близько 65% ринкового доходу [8]. Це зумовлено перевагами бактеріальних альфа-амілаз у термостабільності, масштабованості виробництва та регуляторній визначеності. Порошкові та гранульовані форми препаратів утримують приблизно 80,3% ринку за рахунок більшого терміну зберігання та зручності дозування, тоді як рідкі форми є найбільш швидкозростаючим сегментом [8].

Провідні виробники – Novozymes A/S (Данія), DuPont/IFF (США), DSM (Нідерланди), AB Enzymes (Німеччина) та Amano Enzyme (Японія) – сукупно контролюють понад 50% глобального ринку [8]. Серед вітчизняних виробників альфа-амілази провідне місце займає ПрАТ «ENZIM Biotech» (м. Вінниця), що виробляє термостабільну альфа-амілазу бактеріальну з ферментною активністю 900 од/мл методом глибинної ферментації [2].

1.3 Промислове застосування альфа-амілази бактеріальної

Широкий температурний та рН-діапазон активності термостабільної альфа-амілази визначає її незамінну роль у різних галузях промисловості.

					162.01.03.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		10

Альфа-амілаза мікробного походження фактично повністю замінила кислотний гідроліз крохмалю в промисловості, забезпечивши більш ефективні, економічні та екологічно безпечні технологічні процеси [7].

Крохмалепереробна промисловість є найбільшим споживачем термостабільної альфа-амілази. Технологічний процес переробки крохмалю включає три послідовні стадії: клейстеризацію (утворення в'язкої суспензії при нагріванні), ліквефакцію (часткове ферментативне розщеплення з різким зниженням в'язкості) та сахарифікацію (гідроліз до кінцевих продуктів – глюкози, мальтози та мальтодекстринів) [7] (рис. 1.3).

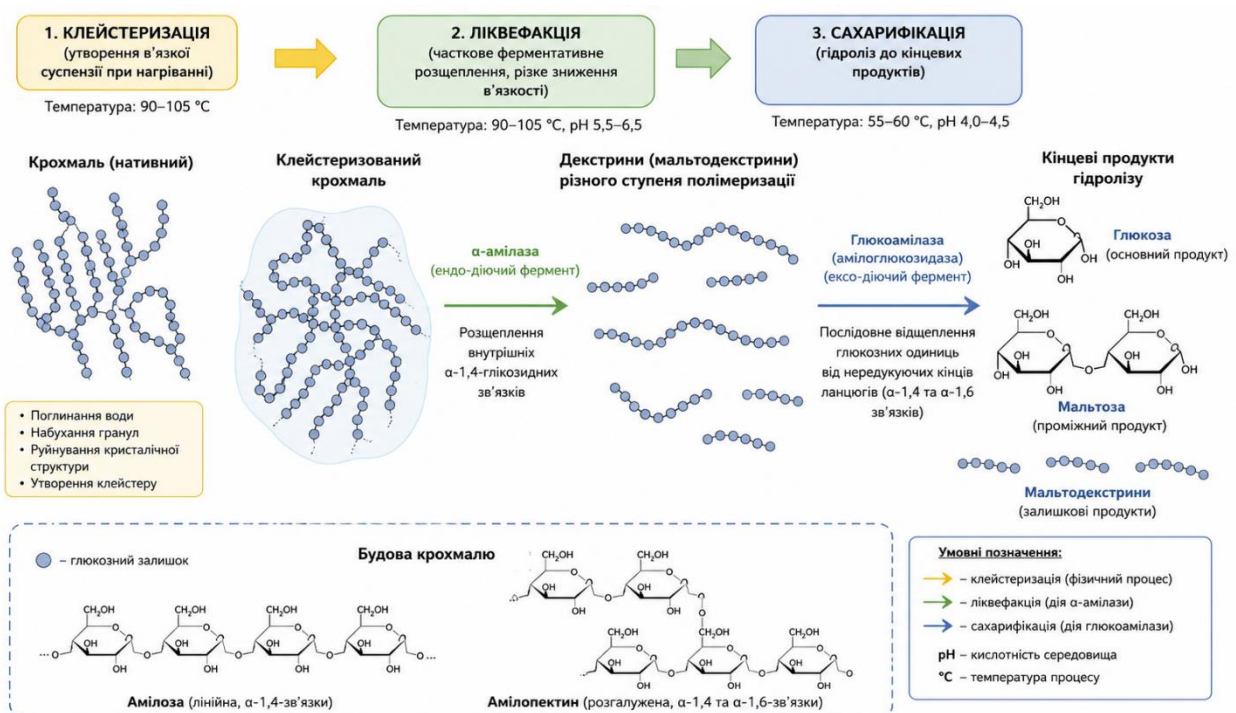


Рис. 1.3 Схема біохімічних перетворень під час ферментативної переробки крохмалю

Промислова ліквефакція крохмалю ведеться у дві температурні стадії: попередня ліквефакція при 70–90°C та основна при 105°C протягом 5 хвилин з подальшою витримкою при 90–100°C впродовж 1–2 годин [11]. Виключно термостабільна бактеріальна форма ферменту здатна витримати такий температурний режим, що збігається з умовами желатинізації крохмалю.

Хлібопекарська та харчова промисловість використовує альфа-амілазу для регуляції ступеня деградації крохмалю під час бродіння та випікання.

Фермент покращує газоутворення дріжджами, підвищує питомий об'єм готових виробів, забезпечує рівномірнішу пористість м'якушки та суттєво уповільнює ретроградацію крохмалю (процес черствіння), подовжуючи термін придатності продукції [7]. Окрім хлібопечення, амілазні препарати застосовуються для освітлення фруктових соків та пива, де знижують в'язкість і полегшують фільтрацію.

Спиртова промисловість споживає альфа-амілазу як обов'язковий компонент при переробці зернової крохмалевмісної сировини (кукурудза, пшениця, ячмінь) на біоетанол. Перетворення крохмалю на зброджуваний субстрат для *Saccharomyces cerevisiae* включає дві послідовні ферментативні стадії – ліквефакцію та сахарифікацію, після чого відбувається власне спиртове бродіння [7]. Незважаючи на активний розвиток біопалив другого та третього поколінь на лігноцелюлозній сировині, застосування альфа-амілазу у виробництві біоетанолу першого покоління залишається незамінним у найближчій перспективі [7].

Текстильна промисловість використовує альфа-амілазу для розшліхтування (десайзингу) бавовняної пряжі – ферментативного видалення крохмального захисного шару, нанесеного на нитки основи перед ткацтвом. Фермент ефективно гідролізує крохмаль у суміші з полівініловим спиртом (PVA) та карбоксиметилцелюлозою (СМС), що дозволяє обробляти тканини, ошліхтовані сучасними складними рецептурами [6]. Ферментативний десайзинг є більш м'яким щодо волокна та значно менш шкідливим для навколишнього середовища порівняно з традиційним кислотним або лужним розшліхтуванням [13].

Целюлозно-паперова промисловість застосовує альфа-амілазу для контрольованої деполімеризації крохмалю, яким просочують папір з метою підвищення поверхневої міцності та якості друку. Ферментативна модифікація дозволяє отримати крохмаль із заданою в'язкістю без погіршення адгезійних властивостей покриття. У детергентній промисловості термостабільна альфа-амілаза *B. licheniformis*, відома під торговою назвою «Тер-

										Арк.
										12
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	162.01.03.00 000 ПЗ					

мамил» (Novozymes), входить до складу більшості сучасних пральних засобів та препаратів для посудомийних машин, ефективно видаляючи крохмалевмісні забруднення за умов лужного рН та наявності окисників [14].

У фармацевтичній та кормовій галузях альфа-амілаза застосовується як компонент препаратів для корекції екзокринної недостатності підшлункової залози та підвищення засвоюваності крохмалевмісних кормів у тваринництві [7]. Окрім традиційних сфер, дослідження останніх років демонструють перспективи застосування альфа-амілаз у біоремедіації – зокрема, для деградації н-алканів нафтового походження та низькощільного поліетилену [9].

1.4 Порівняльна характеристика джерел та методів отримання альфа-амілаз. Обґрунтування вибору мікробного продуцента

Альфа-амілази можуть бути отримані з рослинних джерел, тваринних тканин та шляхом мікробного синтезу. Кожне з цих джерел має характерні переваги та обмеження, що визначають їх придатність для промислового використання [15].

Рослинні альфа-амілази традиційно використовувалися в пивоварінні у складі солодового екстракту (пророслий ячмінь). Ці ферменти мають оптимум при 50–60°C та рН 5,0–6,0, що значно обмежує їх промислове застосування. Виробництво солодових препаратів залежить від урожаю зернових, є сезонним процесом з непостійним якісним складом та невисокою питомою активністю. Тваринні амілази (слинна, панкреатична) характеризуються оптимумом при 37–40°C та рН 6,8–7,2; вони мають медичне та дієтологічне значення, однак через обмеженість і непостійність сировинної бази, складнощі масштабування та високу вартість виробництва практично непридатні для промислового застосування [16].

Мікробний синтез альфа-амілаз сьогодні є основним та практично безальтернативним промисловим методом завдяки низці системних переваг: можливості цілорічного виробництва незалежно від сезонних факторів; легкому масштабуванню від лабораторного до промислового рівня (від 10 л до 500 м³ і більше); генетичній та фізіологічній пластичності мікроорганізмів,

									Арк.
									13
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	162.01.03.00 000 ПЗ				

що дозволяє поліпшувати штами класичними та молекулярно-генетичними методами; можливості отримання ферментів з унікальними фізико-хімічними характеристиками – термостабільністю, кислото- та лужностійкістю; а також можливості використання дешевих агропромислових відходів як субстратів для зниження собівартості [7, 16].

Серед мікробних продуцентів промислово значущі альфа-амілази виробляються представниками двох основних груп мікроорганізмів – бактеріями роду *Bacillus* та грибами роду *Aspergillus*. Порівняльна характеристика цих продуцентів наведена у таблиці 1.1.

Таблиця 1.1

Порівняльна характеристика основних джерел та мікробних продуцентів альфа-амілази

Джерело / Продуцент	Оптимум T, °C	Оптимум pH	Характеристика та обмеження
Рослини (ячмінь, пшениця)	50–60	5,0–6,0	Традиційне джерело; низька термостабільність; сезонна залежність; нестабільність якісного складу
Тварини (підшлункова залоза)	37–40	6,8–7,2	Висока специфічність; обмежена доступність сировини; висока вартість; практично непридатна для промислового виробництва
Гриби (<i>Aspergillus oryzae</i>)	50–60	5,0–6,5	Термолабільність є перевагою у хлібопеченні (інактивація при випіканні); непридатна для крохмальної та спиртової промисловості; ефективніша для SSF
Бактерії (<i>B. licheniformis</i>)	37–110	6,5–7,5	Унікальна термостабільність (до 110°C); GRAS-статус FDA; екзоферментний синтез через Sec-транслоказу; висока масштабованість; провідний промисловий

			продуцент
Бактерії (<i>B. amyloliquefaciens</i>)	50–70	6,0–7,0	Помірна термостабільність; застосовується переважно в хлібопекарстві; нижча активність при >90°C порівняно з <i>B. licheniformis</i>

Аналіз наведених даних свідчить про очевидну перевагу *Bacillus licheniformis* як промислового продуцента термостабільної альфа-амілази для крохмалепереробної, спиртової та суміжних галузей. Саме цей мікроорганізм обрано продуцентом у виробництві альфа-амілази бактеріальної на ПрАТ «ENZIM Biotech» [2, 18].

1.5 Порівняльна характеристика методів культивування мікроорганізмів-продуцентів альфа-амілази

Вибір методу культивування мікроорганізму-продуцента є одним із ключових технологічних рішень при організації виробництва ферментних препаратів. У промисловій практиці застосовуються два принципово відмінних підходи: глибинна (субмерсна) ферментація (Submerged Fermentation, SmF) та твердофазна ферментація (Solid-State Fermentation, SSF). Кожен з цих методів має характерні переваги та обмеження, що визначають їх застосовність для конкретних комбінацій «продуцент – цільовий продукт» [7].

Глибинна ферментація (SmF) передбачає культивування мікроорганізмів у рідкому поживному середовищі з вмістом вологи понад 95% в умовах інтенсивного перемішування та аерації у герметичних ферментерах. Цей метод є стандартним підходом для промислового виробництва альфа-амілази *B. licheniformis* та має такі ключові переваги: забезпечення асептичних умов та стерильності процесу; точний і відтворюваний контроль фізико-хімічних параметрів (рН, температури, рівня розчиненого кисню, піноутворення); легке масштабування від лабораторного (1–10 л) до промислового рівня (50–500 м³ і більше); висока однорідність культурального середовища; придатність до автоматизації та комп'ютеризованого управління [24].

									162.01.03.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата						15

Наведена порівняльна характеристика однозначно свідчить про те, що для *B. licheniformis* глибинна ферментація є єдиним промислово застосовним методом. Так, дані роботи Msarah et al. (2020) показали, що *B. licheniformis* HULUB1 та *B. subtilis* SUNGB2 ефективно продукують альфа-амілазу з харчових відходів саме методом SmF, оскільки бактерії потребують водного середовища для нормальної фізіологічної активності [7]. Саме тому на ПрАТ «ENZIM Biotech» для виробництва альфа-амілази бактеріальної реалізована технологія глибинної ферментації [2].

Перспективним напрямком зниження собівартості виробництва методом SmF є часткова або повна заміна синтетичних компонентів поживного середовища на агропромислові відходи, що містять крохмаль у якості природного субстрату-індуктора. Встановлено, що *B. licheniformis* здатна ефективно продукувати альфа-амілазу на середовищах із пшеничними висівками (активність 178,46 IU), рисовими висівками та картопляними лушпайками [7]. Використання таких субстратів у складі поживного середовища SmF дозволяє суттєво знизити витрати на сировину без погіршення основних технологічних показників.

1.6 Сучасні підходи до технічного переоснащення виробництв ферментних препаратів

Технічне переоснащення виробництва є комплексом заходів, спрямованих на підвищення техніко-економічних показників підприємства шляхом впровадження нового, більш продуктивного обладнання, передових технологій та систем управління без корінної зміни виробничого профілю [29]. Для ферментних виробництв технічне переоснащення є особливо актуальним, оскільки галузь перебуває в стані динамічного розвитку: нові конструкції ферментерів, системи контролю та методи оптимізації процесів з'являються значно швидше, ніж відбувається їх впровадження на виробництві.

Аналіз сучасного стану ферментного виробництва в Україні та світі дозволяє виділити кілька ключових напрямків технічного переоснащення,

					162.01.03.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		17

кожен з яких забезпечує певний внесок у підвищення ефективності та якості продукції.

Модернізація ферментерного обладнання. Сучасний ринок пропонує ферментери нових поколінь з принципово покращеними характеристиками масообміну та газообміну. Серед ключових конструктивних удосконалень – застосування вдосконалених імпелерів типу Rushton, Intermig або «гіперболічний перемішувач», що забезпечують кращий розподіл повітря в культуральній рідині при нижчих витратах енергії. Для виробництва ферментів, що вимагають інтенсивної аерації, зокрема альфа-амілази *B. licheniformis*, важливим є контроль рівня розчиненого кисню (DO) на рівні не менше 20% насичення, оскільки кисень є лімітуючим фактором продуктивності [34]. Альтернативою традиційним ферментерам з механічним перемішуванням є ерліфтні біореактори (airlift), в яких циркуляція рідини забезпечується потоком повітря. Ерліфтні системи характеризуються нижчим механічним навантаженням на клітини, що є перевагою для деяких чутливих до сил зсуву продуцентів, та нижчим споживанням енергії на перемішування [31].

Впровадження технологій процесного аналітичного контролю (PAT). Ініціатива PAT (Process Analytical Technology), запроваджена FDA у 2004 році, передбачає застосування аналітичних засобів для вимірювання критичних параметрів процесу в режимі реального часу з метою забезпечення якості кінцевого продукту [35]. У контексті ферментаційного виробництва PAT включає онлайн-вимірювання pH, температури, розчиненого кисню (DO), CO₂, концентрації біомаси (через оптичну густину або ємнісний сенсор), а також спектроскопічні методи – БІЧ (ближня інфрачервона спектроскопія) та раман-спектроскопію – для *in situ* визначення концентрацій субстрату та продукту [35]. Інтеграція PAT-інструментів з системами управління SCADA (Supervisory Control and Data Acquisition) дозволяє реалізувати концепцію «замкненого контуру» управління процесом, де відхилення параметрів автоматично коригуються у реальному часі. Показано, що впровадження PAT у біофармацевтичному виробництві значно підвищує відтво-

									Арк.
									18
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	162.01.03.00 000 ПЗ				

рюваність процесів та скорочує кількість відхилень від специфікацій [35]. Глобальний ринок біофармацевтичної ферментації, що тісно пов'язаний з впровадженням PAT, зростає з темпом понад 6% CAGR і, за прогнозами, досягне 16,03 млрд дол. США до 2031 р. [35].

Оптимізація систем стерилізації. Традиційна порційна (batch) стерилізація поживного середовища в ферментері є однією з основних причин тривалих простоїв у виробництві. Безперервна стерилізація (continuous sterilization), що передбачає нагрівання середовища до 130–140°C у теплообміннику з подальшим витримуванням та швидким охолодженням у потоці, скорочує час простою на 30–50% та забезпечує кращу збереженість термолабільних компонентів середовища [30]. Впровадження стерилізації «на місці» (Sterilize-In-Place, SIP) для ферментерів та систем трубопроводів підвищує надійність забезпечення асептичних умов і є стандартом сучасних GMP-виробництв.

Автоматизація виділення та концентрування ферменту. Стадія виділення та очищення ферменту (downstream processing) є одним із найбільш витратних етапів виробництва ферментних препаратів. Для рідких концентрованих препаратів типу альфа-амілази бактеріальної (900 од/мл) ключовими операціями виділення є: центрифугування або мікрофільтрація для відділення біомаси; ультрафільтрація на мембранах з порогом відсікання 10–30 кДа для концентрування і часткового очищення; стандартизація активності та розлив в асептичних умовах [30]. Впровадження сучасних тангенціальних мікрофільтраційних систем та мембранних модулів для ультрафільтрації значно підвищує вихід ферменту при виділенні та скорочує час обробки.

Екологічні аспекти модернізації. Сучасні вимоги до екологічної безпеки виробництва є важливим чинником технічного переоснащення. Виробничі стічні води ферментаційних підприємств містять залишки поживних середовищ, мертву біомасу та інші органічні речовини, що потребують відповідного очищення. Впровадження систем анаеробного зброджування

									Арк.
									19
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	162.01.03.00 000 ПЗ				

відпрацьованої біомаси та мулу дозволяє перетворювати відходи на біогаз, знижуючи екологічне навантаження та отримуючи додаткову енергетичну цінність. Підприємства, що впроваджують такі системи, відповідають вимогам ISO 14001 та отримують конкурентні переваги при виході на міжнародні ринки [30].

Таблиця 1.3

Напрямки технічного переоснащення виробництв ферментних препаратів та їх ефективність

Напрямок переоснащення	Ключові заходи	Очікуваний ефект	Джерело
Ферментерне обладнання	Ферментери з удосконаленими імелерами; ерліфтні системи; DO-контроль	Підвищення продуктивності на 20–40%	[31, 34]
РАТ та автоматизація	SCADA, онлайн-сенсори рН/DO/CO ₂ /біомаси; ІЧ-спектроскопія in situ	Підвищення відтворюваності; скорочення браку	[35]
Стерилізація	Безперервна стерилізація; SIP-системи	Скорочення простоїв на 30–50%	[30]
Виділення ферменту	Тангенціальна мікрофільтрація; сучасні УФ-мембрани	Підвищення виходу на 10–20%	[30]
Управління відходами	Анаеробне зброджування біомаси; нейтралізація стоків	Відповідність ISO 14001	[30]

Комплексне технічне переоснащення ферментного виробництва, як правило, забезпечує підвищення продуктивності ферментера на 15–40%, зниження питомих витрат сировини та енергоносіїв на 10–25%, покращення стабільності якісних показників готового препарату та суттєве скорочення виробничих втрат [31].

ПрАТ «ENZIM Biotech» (м. Вінниця) є провідним українським виробником ферментних препаратів мікробіологічного синтезу, зокрема альфа-амілази бактеріальної високотемпературної з активністю 900 од/мл, що виробляється методом глибинної ферментації штаму *Bacillus licheniformis* [2]. Аналіз виробничого процесу підприємства виявив низку напрямків, що потребують технічного переоснащення з метою підвищення конкурентоспроможності продукції на вітчизняному та міжнародному ринках. У рамках даної роботи розглядається технічне переоснащення стадії ферментації як ключового і найбільш капіталомісткого етапу виробничого процесу.

Висновки до розділу 1

1. Альфа-амілаза (КФ 3.2.1.1) є провідним промисловим ферментом, що займає 25–30% загального ринку ферментних препаратів. Глобальний ринок альфа-амілаз у 2025 р. оцінюється в 2,2 млрд дол. США з прогнозом зростання до 3,4 млрд дол. США до 2032 р. (CAGR 6,1%) [8].

2. Провідними споживачами альфа-амілаз є крохмалепереробна, харчова, спиртова, текстильна, целюлозно-паперова та детергентна галузі. Фармацевтичний сектор є найшвидше зростаючим сегментом. Бактеріальна альфа-амілаза займає 65% ринку [8].

3. Серед усіх джерел отримання альфа-амілаз мікробний синтез є єдиним промислово придатним методом. Бактерії роду *Bacillus*, зокрема *B. licheniformis*, є оптимальним продуцентом термостабільної альфа-амілази завдяки активності в діапазоні 30–110°C, GRAS-статусу та екзоферментному синтезу [7, 18].

4. Глибинна ферментація (SmF) є єдиним промислово придатним методом культивування *B. licheniformis* для виробництва альфа-амілази, що забезпечує точний контроль параметрів, стерильність та масштабованість процесу [7, 24].

5. Сучасні підходи до технічного переоснащення ферментних виробництв охоплюють модернізацію ферментерного обладнання, впровадження ПАТ-технологій та SCADA-систем, удосконалення стерилізації та виділення

					162.01.03.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		21

продукту. Технічне переоснащення виробництва альфа-амілази на ПрАТ «ENZIM Biotech» є обґрунтованим та актуальним завданням.

					162.01.03.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		22

2 ХАРАКТЕРИСТИКА ГОТОВОГО ПРОДУКТУ, СИРОВИНИ, МАТЕРІАЛІВ, НАПІВПРОДУКТІВ

2.1 Характеристика готового продукту

Об'єктом виробництва є ферментний препарат «Альфалад БТ Л» (Альфа-амілаза бактеріальна високотемпературна) виробництва ПрАТ «ENZIM Biotech» (Україна) [1].

Препарат являє собою рідку препаративну форму на основі термостабільної α -1,4-глюкан-4-глюканогідролази (КФ 3.2.1.1), що отримується методом глибинної ферментації штаму-продуцента *Bacillus licheniformis*. Призначений для застосування у схемах високотемпературного гідролізу крохмальвмісної сировини у спиртовій, крохмалепереробній, харчовій та текстильній промисловості [1, 2].



Рис. 2.1 Зовнішній вигляд упаковки препарату «Альфалад БТ Л» (Альфа-амілаза бактеріальна високотемпературна) ПрАТ «ENZIM Biotech» [1]

Таблиця 2.1

Специфікація препарату «Альфалад БТ Л»

Характеристика	Показник
Торгова назва	Альфалад БТ Л (Alfalad BT L)
Повна назва препарату	Альфа-амілаза бактеріальна високотемпературна

					162.01.03.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		23

пшениця, ячмінь, жито) при виробництві етилового спирту. Процес ведуть при температурі 80-100°C та рН 6,0–7,5, що відповідає рекомендованому температурному діапазону роботи препарату. Ферментативна ліквефакція дозволяє підвищити концентрацію сухих речовин у зброджуваному середовищі, збільшити вихід спирту та скоротити тривалість технологічного циклу порівняно з кислотним гідролізом [1, 7].

Крохмалепереробна промисловість. При виробництві глюкозних і фруктозних сиропів, мальтодекстринів та модифікованих крохмалів «Альфа-лад БТ Л» застосовується на стадії ліквефакції при температурі 90-105°C. Стандартне дозування для промислових процесів ліквефакції становить 0,5-0,6 кг препарату на тонну крохмалю при вмісті Ca^{2+} 20-80 ppm у реакційній суміші [2]. Препарат забезпечує ефективне розрідження крохмальних суспензій концентрацією 30-40% (мас.) [2].

Харчова промисловість. Препарат знаходить застосування при виробництві хлібобулочних виробів, де він забезпечує прискорення бродіння тіста, підвищення питомого об'єму виробів та уповільнення ретроградації крохмалю, що подовжує терміни зберігання готової продукції. Застосовується також для освітлення фруктових соків та пива шляхом зниження в'язкості крохмалевмісних субстратів [7].

Текстильна промисловість. Препарат використовується для ферментативного розшліхтовування (десайзингу) бавовняної пряжі – видалення крохмального захисного шару, нанесеного на нитки основи перед ткацтвом. Ферментативний процес є значно м'якшим та екологічно безпечнішим порівняно з кислотним розшліхтовуванням [7].

Дозування та умови застосування. Рекомендоване дозування «Альфа-лад БТ Л» для промислових процесів ліквефакції становить 0,5–0,6 кг/т крохмалю; конкретна доза визначається виробничим регламентом залежно від типу сировини, ступеня бажаної ліквефакції та параметрів процесу [1, 2]. Оптимальні умови застосування: температура 80–90°C, рН 6,0–7,5, вміст Ca^{2+} у

					162.01.03.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		25

реакційній суміші не менше 20–80 ppm для забезпечення термостабільності ферменту [1].

Нормативна база. Виробництво, контроль якості та обіг ферментного препарату «Альфалад БТ Л» у спиртовій промисловості України регулюється такими нормативними документами: ДСТУ 5069:2008 «Препарати ферментні для спиртового виробництва. Правила приймання, зберігання та методи відбирання проб»; ДСТУ 7899:2015 «Препарати ферментні для спиртового виробництва. Методи визначання органолептичних, фізико-хімічних і мікробіологічних показників». Технічні умови на конкретний препарат «Альфалад БТ Л» є власністю ПрАТ «ENZIM Biotech» та не публікуються у відкритому доступі.

Маркування та заходи безпеки. Маркування каністр здійснюється відповідно до ДСТУ 2887-94 та містить: найменування продукту, виробника, ферментну активність, номер партії, дату виготовлення, термін та умови зберігання, маніпуляційні знаки. Ферментні препарати можуть спричиняти алергічні реакції при вдиханні аерозолію – рекомендується використання ЗІЗ (маска, рукавички) [1].

2.2 Характеристика сировини, матеріалів та напівпродуктів

Раціональний підбір складу поживного середовища є одним із ключових чинників продуктивності процесу ферментації. Для промислового синтезу альфа-амілази *Bacillus licheniformis* необхідне забезпечення мікроорганізму джерелами вуглецю, азоту, мінеральних елементів та ростових факторів у концентраціях, що підтримують активний ріст клітин і одночасно забезпечують максимальну індукцію генетичного апарату синтезу цільового ферменту [3, 4].

Джерело вуглецю та індуктор синтезу амілази. Основним джерелом вуглецю у виробничому середовищі є кукурудзяний крохмаль (20–30 г/л). Крохмаль виконує подвійну функцію: по-перше, він є головним субстратом для катаболізму клітин і джерелом енергії; по-друге, і що принципово важливіше, – природним індуктором гена *amyL*. Мальтоза та декстрини, що утво-

									Арк.
									26
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	162.01.03.00 000 ПЗ				

рюються в результаті гідролізу незначної кількості конститутивно синтезованої амілази, знімають репресію з промотора гена *amyL* та активують РНК-полімеразу, що призводить до різкого збільшення синтезу цільового ферменту [11]. Надмірна концентрація крохмалю (>30 г/л) може призводити до надмірного збільшення в'язкості середовища та обмеження масообміну у ферментері [3].

Джерело азоту та ростових факторів. Органічним джерелом азоту та комплексом ростових факторів слугує кукурудзяний екстракт (Corn Steep Liquor, CSL) (20–30 г/л). CSL є побічним продуктом кукурудзопереробної промисловості, що утворюється при замочуванні зерна кукурудзи у процесі вологого помелу. За хімічним складом CSL є концентрованою рідиною з вмістом сухих речовин 40–50%, що містить близько 47% сирого протеїну від сухої маси, вільні амінокислоти (особливо аланін, глютамінова кислота, пролін), вітаміни групи В (тіамін, рибофлавін, піридоксин, пантотенова кислота), мінеральні речовини (Mg^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+}) та молочну кислоту як природний консервант [3, 4]. CSL є значно економічнішим заміником таких стандартних компонентів поживних середовищ, як дріжджовий екстракт та пептон, і широко використовується у промисловому виробництві антибіотиків, ферментів та амінокислот [3]. Застосування CSL у складі середовища для *V. licheniformis* дозволяє суттєво знизити собівартість одиниці ферментної активності порівняно з синтетичними поживними середовищами [4].

Джерело кальцію. Іони Ca^{2+} є обов'язковим неорганічним компонентом середовища для виробництва термостабільної альфа-амілази. Кальцій координується у трьох сайтах зв'язування молекули VLA (металотріада Ca–Na–Ca) та є критичним для формування та підтримання термостабільної активної конформації ферменту: введення 0,2 г/л $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ ($\approx 0,2$ мМ Ca^{2+}) до складу виробничого середовища підвищує термостабільність синтезованого ферменту та його каталітичну ефективність [5].

Джерело фосфору та буферна ємність. KH_2PO_4 (1,0–3,0 г/л) виконує дві функції: є джерелом фосфору для синтезу нуклеїнових кислот, фосфолі-

									Арк.
									27
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	162.01.03.00 000 ПЗ				

підів та АТФ, а також забезпечує буферну ємність середовища у діапазоні рН 6–7, що є критично важливим для підтримання оптимальних умов синтезу амілази протягом усього циклу ферментації.

Джерело магнію. $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (0,25–1,0 г/л) забезпечує клітини іонами Mg^{2+} , які є кофакторами численних ферментів гліколізу та циклу Кребса, зокрема АТФ-залежних кіназ та РНК-полімерази. Дефіцит Mg^{2+} у середовищі призводить до зниження швидкості росту та падіння продуктивності ферментосинтезу.

Додаткове мінеральне джерело азоту. $(NH_4)_2SO_4$ (1,0–2,5 г/л) є неорганічним джерелом азоту та дозволяє коригувати співвідношення С/Н у середовищі. Крім того, іони NH_4^+ мають важливе технологічне значення: встановлено, що аміак (NH_3), який подається у ферментер для підтримання рН, активує специфічні аміак-індуктивні промотори *V. licheniformis*, підвищуючи рівень синтезу амілази на 23% [6].

Вода очищена є розчинником для всіх компонентів поживного середовища. Жорсткість води має бути мінімальною ($\leq 0,1$ мг-екв/л), оскільки надмірний вміст Ca^{2+} та Mg^{2+} у вихідній воді може порушити контрольоване внесення цих катіонів у задані концентрації.

Характеристика всіх компонентів сировини, матеріалів та напівпродуктів наведена у таблиці 2.2.

Таблиця 2.2

Характеристика сировини, матеріалів і напівпродуктів виробництва препарату «Альфалад БТ Л»

Найменування	Категорія та номер НТД	Показники НТД, обов'язкові для перевірки	Призначення
1. Основна сировина (склад поживного середовища за [3, 4])			
Крохмаль кукурудзяний, 20–30 г/л [3, 4]	ДСТУ 3976:2008	Зовн. вигляд (білий/кремовий порошок); вологість ($\leq 14\%$); крупність ($\geq 98\%$ крізь сито 0,16	С-джерело та індуктор синтезу α -амілази

		мм); кислотність	
Кукурудзяний екстракт (CSL), 20–30 г/л [3, 4]	ТУ У 10.6-00383372-011:2015 «Екстракт кукурудзяний згущений. Технічні умови»	Зовнішній вигляд (густа непрозора рідина від жовтого до коричневого кольору); масова частка сухих речовин ($\geq 40\%$); рН 4,0–5,5; загальний азот; відсутність стороннього запаху	Комплексне N-джерело: амінокислоти, пептиди, вітаміни В
Кальцію хлорид $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,2 г/л [3, 5]	ГОСТ 4463-76	Масова частка CaCl_2 ($\geq 96\%$); рН розчину (4,5–8,5); відсутність важких металів	Ca^{2+} – кофактор активного центру; підвищує термостабільність амілази
Магнію сульфат $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,25–1,0 г/л [3]	ГОСТ 4523-77	Масова частка MgSO_4 ($\geq 99\%$); відсутність важких металів	Mg^{2+} – активатор ферментів гліколізу та ЦТК
Калію дигідрофосфат K_2HPO_4 , 1,0–3,0 г/л [3]	ГОСТ 4198-75	Масова частка K_2HPO_4 ($\geq 99\%$); відсутність хлоридів	Буферування рН; джерело K^+ та фосфору
Амонію сульфат $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 1,0–2,5 г/л [3]	ГОСТ 9097-82	Масова частка ($\geq 99\%$); рН водного розчину (4,5–6,0)	Мінеральне N-джерело; корекція C/N-співвідношення
Вода очищена	ДФУ 2.0, монографія «Вода очищена»	Прозорість; рН (5,0–7,5); жорсткість ($\leq 0,1$ мг-екв/л); відсутність мікробіологічних забруднень	Розчинник компонентів середовища
2. Допоміжна сировина			
Аміак водний технічний 25%	ГОСТ 3760-79	Масова частка NH_3 ($\geq 24,5\%$); прозорість; відсутність механічних домішок	Регуляція рН; індуктор аміакзалежних промоторів [6]
Кислота соляна технічна	ДСТУ ГОСТ 857:2014	Масова частка HCl ($\geq 34\%$); відсутність органічних домішок	Регуляція рН у разі лужного відхилення

Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата

162.01.03.00 000 ПЗ

Арк.

29

Піногасник (пропінол Б-400)	ТУ У виробника	Зовн. вигляд (прозора рідина); вміст активної речовини ($\geq 80\%$) сумісність із ферментаційним процесом	Пригнічення піноутворення при ферментації
Спирт етиловий ректиф. 96%	ДСТУ 4221:2003	Об'ємна частка спирту ($\geq 96\%$); відсутність сторонніх домішок	Дезінфекція обладнання та робочих поверхонь
Мийний засіб РЗ-Охоніа або аналог	Специфікація виробника	Концентрація активних компонентів; рН розчину	СІР/СІР-миття та дезінфекція ферментерів

3. Матеріали

Мембрани мікрофільтраційні 0,2 мкм (PVDF або PES)	ISO 4793 / специфікація виробника	Пористість (0,2 мкм); стійкість до стерилізації паром при 121°C, продуктивність фільтрації	Стерилізуюча фільтрація повітря та розчинів
Мембрани ультрафільтраційні (10 кДа)	Специфікація виробника	Поріг відсікання (10 кДа); стійкість до СІР-миття	Концентрування ферментного препарату
Каністри полімерні HDPE (1, 5, 10, 20 л)	НТД виробника, сертифікат відповідності	Матеріал HDPE; герметичність укупорки; відсутність запаху	Первинна упаковка готового препарату

4. Напівпродукти

Маточна культура <i>V. licheniformis</i> (1-а генерація)	Внутрішній регламент	Відсутність сторонньої мікрофлори; зона просвітлення на крохмальному агарі; морфологія колоній	Для отримання посівної культури 2-ї генерації
Посівна культура (2-а генерація, інокулятор)	Внутрішній регламент	Відсутність контамінантів; OD ₆₀₀ 5–8; рН 6,8–7,2; амілолітична активність (≥ 50 од/мл)	Інокулят для виробничого ферментера (5–10% об'єму)
Культуральна рідина після фер-	Специфікація виробника	Амілолітична активність (≥ 700 Сх	Для стадії відділення біома-

Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата

162.01.03.00 000 ПЗ

Арк.

30

ментації		од/мл); рН 6,5–7,5; відсутність конта- мінантів	си та кон- центрування
Концентрований ферментний розчин (після УФ)	Специфікація напівпродукту	Амілолітична активність (≥ 800 Сх од/мл); рН 5,5–7,0; вміст СР	Для стадії стандартизації та розливу

Примітка. Склад поживного середовища наведено відповідно до даних науково-технічної літератури [3, 4]. Кукурудзяний екстракт (CSL) закуповується на вітчизняних кукурудзопереробних підприємствах. Конкретний склад виробничого середовища ПрАТ «ENZIM Biotech» є комерційною інформацією та може відрізнятися.

2.3 Характеристика біологічного об'єкту

Продуцентом альфа-амілази бактеріальної у виробничому процесі ПрАТ «ENZIM Biotech» є бактерія *Bacillus licheniformis* (Weigmann, 1898) Chester, 1901. Нижче наведено систематичне положення, морфолого-цитологічні, культуральні та фізіолого-біохімічні характеристики мікроорганізму [7, 8].

Таблиця 2.3

Систематичне положення *Bacillus licheniformis*

Таксономічний ранг	Назва
Домен (Domain)	Bacteria
Тип (Phylum)	Bacillota (= Firmicutes)
Клас (Class)	Bacilli
Ряд (Order)	Bacillales
Родина (Family)	Bacillaceae
Рід (Genus)	Bacillus
Вид (Species)	<i>Bacillus licheniformis</i> (Weigmann, 1898) Chester, 1901

Морфолого-цитологічні ознаки

Bacillus licheniformis – грампозитивна, спороутворююча, рухома паличкоподібна бактерія. Клітини прямі, циліндричні, розміром 0,6-0,8×1,5-3,0 мкм, розташовуються поодинокі або у коротких ланцюжках. Цитоплазма-

									Арк.
									31
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	162.01.03.00 000 ПЗ				

тична мембрана оточена товстим шаром пептидоглікану, що є типовою ознакою грампозитивних бактерій [7].

Ендоспори еліпсоїдні або циліндричні, центральні або субтермінальні, не деформують клітину-спорангій. Спороутворення індукується за умов нестачі поживних речовин наприкінці логарифмічної або на початку стаціонарної фази росту. Ендоспори *B. licheniformis* стійкі до нагрівання: стандартний цикл автоклавування при 121°C, 20–30 хв забезпечує їх надійну інактивацію [7].

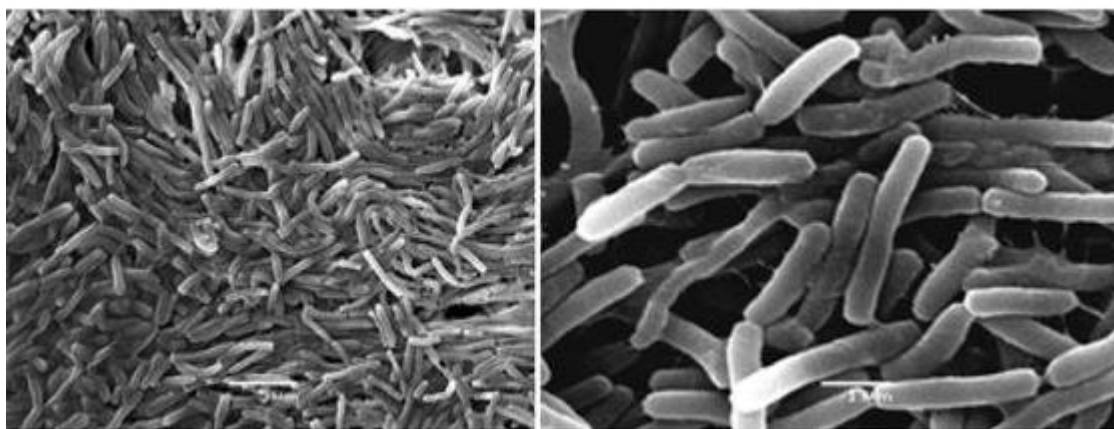


Рис. 2.2 Мікрофотографія *B. Licheniformis*.

Джерело: Al-Bahry, S.N., Al-Wahaibi, Y.M., Al-Hinai, B. *et al.* Potential in heavy oil biodegradation via enrichment of spore forming bacterial consortia. *J Petrol Explor Prod Technol* **6**, 787–799 (2016).

<https://doi.org/10.1007/s13202-016-0228-8>

Рухливість забезпечується перитрихіальними джгутиками. Клітини забарвлюються у позитивну реакцію за Грамом. Бактерія широко поширена в ґрунті, воді та на пір'ї птахів [7].

Культуральні ознаки

На агаризованих поживних середовищах (МПА, LB-агар, крохмально-мінеральний агар) *B. licheniformis* формує колонії матові або злегка блискучі, непрозорі, неправильної форми з нерівним краєм; консистенція – суха або слизова залежно від штаму; колір – від білого до кремово-жовтого; діаметр 3–8 мм після 24–48 год інкубації при 37°C [7]. На крохмальному агарі навколо колоній утворюється зона просвітлення («гало») при обробці розчином Люголя – характерна ознака амілолітичної активності штаму.

									Арк.
									32
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	162.01.03.00 000 ПЗ				



Рис. 2.3. Колонії *Bacillus licheniformis* на кров'яному агарі. Джерело:

https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Bacillus_licheniformis.jpg

У рідкому поживному середовищі (МПБ, виробниче середовище) ріст проявляється у вигляді рівномірного помутніння та поступового утворення плівки на поверхні. У виробничих умовах при інтенсивному перемішуванні та аерації культура росте у вигляді гомогенної суспензії.

Фізіолого-біохімічні ознаки

Таблиця 2.4

Основні фізіолого-біохімічні характеристики *Bacillus licheniformis*

Характеристика	Значення / Показник
Відношення до кисню	Факультативний анаероб; у промисловості культивується аеробно
Діапазон температур росту	15-55°C (оптимум 30–50°C)
Оптимальний рН росту	6,0-8,0 (оптимум 7,0)
Оптимальна температура синтезу амілази	37°C; синтезована амілаза активна до 100°C
Статус безпеки	GRAS (Generally Recognized As Safe), підтверджений FDA [8]; безпечний для людини і тварин
Тип живлення	Хемоорганогетеротроф
Джерела вуглецю	Крохмаль, мальтоза, глюкоза, органічні кислоти
Каталаза	Позитивна (+)
Оксидаза	Позитивна (+)

Гідроліз крохмалю	Позитивна (+); «гало» на крохмальному агарі
Гідроліз желатину	Позитивна (+)
Утворення ацетоїну (Фогес-Проскауер)	Позитивна (+)
Відновлення нітратів до нітритів	Позитивна (+)
Збудник захворювань	Ні (непатогенний для людини і тварин)

Штам *B. licheniformis* отримав статус GRAS від FDA, що підтверджує його безпечність для виробництва харчових ферментних препаратів [8]. Безпечність альфа-амілази з нерекомбінантного штаму *B. licheniformis* АЕ-ТА підтверджена також EFSA у 2024 р. [9].

Генетичні характеристики

Геном *B. licheniformis* ATCC 14580 має розмір 4,22 Мп та містить 4208 ORF. Ключовим є ген *amyL* (1539 пн), що кодує термостабільну альфа-амілазу – зрілий поліпептид із 512 амінокислотних залишків та N-термінальний сигнальний пептид із 29 залишків [10]. Сигнальний пептид спрямовує транслокацію ферменту через Sec-транслоказну систему, що забезпечує його секрецію безпосередньо у культуральну рідину [6]. Промотор гена *amyL* є індукованим крохмалем та репресованим глюкозою (катаболітна репресія через систему CsrA) [11].

2.4 Біосинтез цільового продукту

Біосинтез альфа-амілази *B. licheniformis* є регульованим процесом, що включає транскрипцію гена *amyL*, трансляцію, пост-трансляційну модифікацію та Sec-опосередковану секрецію ферменту у культуральну рідину. Продукт накопичується позаклітинно, що суттєво спрощує його виділення та очищення.

Катаболізм субстрату та енергетичний метаболізм

Основним джерелом вуглецю та енергії для *B. licheniformis* у процесі виробничої ферментації є крохмаль поживного середовища. На початку ферментації невелика кількість конститутивно синтезованої позаклітинної α -

										Арк.
										34
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	162.01.03.00 000 ПЗ					

амілази гідролізує крохмаль до мальтози та декстринів. Ці продукти транспортуються у клітину специфічними транспортними системами (мальтоза-PTS) та гідролізуються мальтазою до глюкози, яка залучається до гліколізу за шляхом Ембдена–Мейєрхофа–Парнаса [12].

За аеробних умов піруват окислюється до ацетил-КоА піруватдегідрогеназним комплексом; ацетил-КоА вступає до циклу трикарбонових кислот (ЦТК). Повне аеробне окислення глюкози забезпечує 36–38 молекул АТФ, що використовуються для біосинтезу ферменту та підтримання клітинного росту.

Регуляція біосинтезу альфа-амілази

Індукція крохмалем та мальтозою. Крохмаль і мальтоза є природними індукторами транскрипції гена *amyL*: в їх присутності репресор звільняє промоторну ділянку, активуючи РНК-полімеразу [11].

Катаболітна репресія. Глюкоза спричиняє катаболітну репресію через механізм CcpA (Catabolite Control Protein A): HPr-кіназа фосфорилує білок HPr, який у комплексі з CcpA зв'язується з *cre*-елементом промотора гена *amyL* та пригнічує транскрипцію. Тому у виробничих середовищах уникають надмірного вмісту глюкози та надають перевагу крохмалю як субстрату [11].

Аміакова індукція. Аміак (NH_3), що подається у ферментер для підтримання рН, активує специфічні аміак-індуктивні промотори *B. licheniformis* (зокрема, *Prlp*). Встановлено, що активація цього промотора аміаком підвищує рівень синтезу α -амілази на 23% [6].

Регуляція системою DegS–DegU. Дворкомпонентна регуляторна система DegS–DegU контролює синтез позаклітинних деградативних ферментів: фосфорилований DegU активує транскрипцію гена *amyL* через зв'язування з його промоторною ділянкою.

Схема Sec-секреції та фолдинг альфа-амілази

					162.01.03.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		35

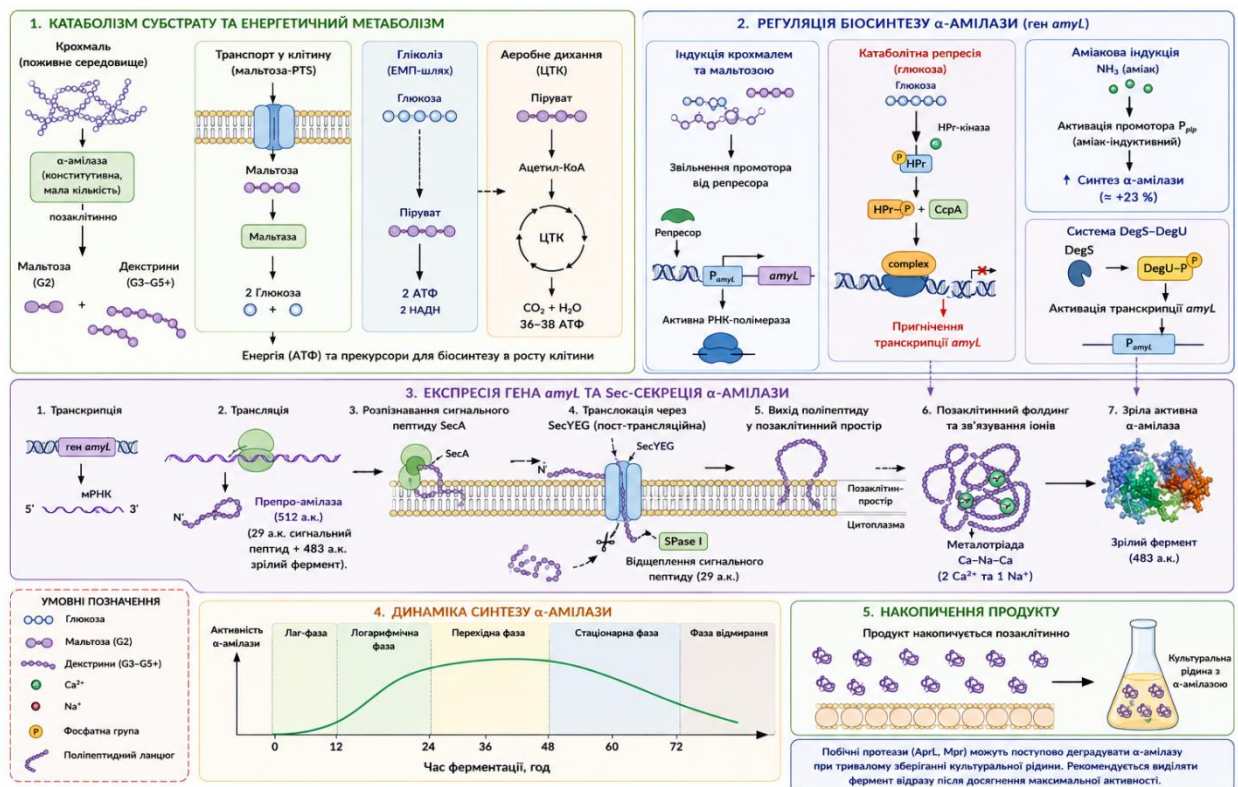


Рис.2.4. Схема біосинтезу, регуляції експресії та Sec-опосередкованої секреції α -амілази *Bacillus licheniformis* під час виробничої ферментації.

Синтез α -амілази починається з транскрипції гена *amyL* та трансляції рибосомами з утворенням препро-амілази – поліпептиду-попередника, що включає зрілий фермент (512 а.к.) та N-термінальний сигнальний пептид (29 а.к.) [10]. Сигнальний пептид розпізнається SecA-шапероном та спрямовується до транслокону SecYEG у цитоплазматичній мембрані. Транслокація відбувається у пост-трансляційному режимі; одночасно сигнальна пептидаза (SPase I) відщеплює сигнальний пептид. Зрілий поліпептид виходить у позаклітинний простір через пори клітинної стінки [6].

Позаклітинний фолдинг та захоплення іонів Ca^{2+} відбуваються спонтанно: Ca^{2+} координується у трьох сайтах зв'язування (металотріада Ca–Na–Ca) та є критичним для підтримання термостабільної конформації ферменту [5]. Після фолдингу молекула α -амілази набуває тривимірної структури з трьома доменами: домен А ((β/α)₈-бочонок, каталітичний), домен В (субстратна специфічність) та домен С (структурна стабілізація).

Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата
------	------	----------	--------	------

тому виділення ферменту рекомендується розпочинати одразу після досягнення максимальної активності.

Висновки до розділу 2

1. Об'єктом роботи є рідкий ферментний препарат «Альфалад БТ Л» (800 Сх од/мл) ПрАТ «ENZIM Biotech», призначений для високотемпературної ліквефакції крохмалю. Упаковка – каністри HDPE 1/5/10/20 л, термін зберігання 6 місяців при +2...+15°C.

2. Поживне середовище для виробничої ферментації базується на крохмалі кукурудзяному (20–30 г/л) та кукурудзяному екстракті CSL (20–30 г/л) як основних компонентах, з добавкою CaCl₂, MgSO₄, KН₂PO₄ та (NH₄)₂SO₄ для корекції мінерального складу.

3. Біологічним агентом є *Bacillus licheniformis* – грампозитивна факультативно-анаеробна спороутворююча бактерія (0,6–0,8 × 1,5–3,0 мкм) з GRAS-статусом FDA. Ферментосинтез здійснюється через Sec-транслоказну систему з секрецією α-амілази безпосередньо у культуральну рідину.

4. Біосинтез α-амілази регулюється: індукцією крохмалем і мальтозою; катаболітною репресією через систему CspA при наявності глюкози; аміак-індуктивними промоторами (підвищення активності на 23%). Максимальна активність ферменту – 24-48 год ферментації.

					162.01.03.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		38

3 ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА

3.1 Розрахунок матеріального балансу

Матеріальний баланс установлює кількісне співвідношення між сировиною, матеріалами, напівпродуктами, які використовуються у виробничому процесі, та цільовим продуктом, відходами і виробничими втратами. Він є основою для розрахунку необхідних кількостей компонентів живильного середовища, об'єму допоміжних реагентів, для подальшого визначення продуктивності апаратури, витрат енергоносіїв та обґрунтування технічного переоснащення.

Матеріальний баланс виробництва препарату «Альфалад БТ» (альфа-амілаза бактеріальна високотемпературна, активність 900 од/мл, фасування у каністри місткістю 1, 5 та 20 л) складено на одну виробничу серію. Серія визначається обсягом культуральної рідини, який напрацьовується за один цикл роботи основного ферментера після переоснащення. За об'єкт переоснащення прийнято основний виробничий ферментер геометричним об'ємом 10 м³ із коефіцієнтом заповнення 0,7, що відповідає робочому об'єму культуральної рідини 7,0 м³ за серію.

Склад поживного середовища, технічні характеристики й категорії нормативно-технічної документації на сировину наведено в підрозділі 2.2 (таблиця 2.2). Для виробничої ферментації *Bacillus licheniformis* застосовують середовище на основі крохмалю кукурудзяного (17,3 г/л) як індуктора синтезу амілази та кукурудзяного екстракту (CSL, 30 г/л) як комплексного джерела азоту, амінокислот і факторів росту, доповнене мінеральними солями (CaCl₂·2H₂O, MgSO₄·7H₂O, KH₂PO₄, (NH₄)₂SO₄). Регулювання рН у ході ферментації забезпечується подачею 25 %-го водного аміаку, піногасіння – додаванням пропінолу Б-400.

Розрахунок об'ємів культуральної рідини за стадіями посівної лінії

Виробництво посівного матеріалу здійснюється у три ступені за схемою «лабораторні колби → інокулятор → посівний ферментер → основний ферментер» зі співвідношенням об'ємів 1:10 між суміжними ступенями. Ро-

					162.01.03.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		39

Витрачено				Отримано			
№	Найменування сировини та напівпродуктів	Од. виміру	Кількість	№	Найменування кінцевого продукту, відходів і втрат	Од. виміру	Кількість
1	2	3	4	5	6	7	8
6	Амонію сульфат	кг	39,50				
7	Вода питна	кг	7493,00				
8	Пара водяна гостра	кг	240,00				
	Всього:	кг	8169,87		Всього:	кг	8169,87

ДР 2. Підготовка посівного матеріалу (три ступені)

<i>А Сировина / Б Напівпродукт</i>				<i>Б Напівпродукт</i>			
1	Штам Bacillus licheniformis (кріоконсерв.)	кг	0,003	1	Виробничий інокулят	кг	721,00
2	Стерильне живильне середовище	кг	800,31				
	Повітря стерильне	м ³	≈ 1500		В Втрати		
				1	Технологічні (відбори проб, залишки)	кг	79,31
	Всього (без повітря):	кг	800,31		Всього:	кг	800,31

ТП 3. Виробничий біосинтез у основному ферментері (V = 7000 л)

<i>А Сировина / Б Напівпродукт</i>				<i>Б Напівпродукт</i>			
1	Стерильне живильне середовище	кг	7210,00	1	Культуральна рідина (1000 од/мл; 7,0 млрд од)	кг	7210,00
2	Виробничий інокулят	кг	721,00				
3	Аміак водний 25 % (регулятор рН)	кг	210,00		В Відходи (газовий унос)		
4	Пропінол Б-400 (піногасник)	кг	21,00	1	СО ₂ метаболічний (вуглець із субстрату)	кг	85,00
	Повітря стерильне	м ³	≈ 12 600	2	Водяна пара (випаровування з відхідним повітрям)	кг	827,00
				3	NH ₃ та інші леткі сполуки	кг	40,00
	Всього (без повітря):	кг	8162,00		Всього:	кг	8162,00

ТП 4. Сепарація та мікрофільтрація культуральної рідини

<i>А Сировина / Б Напівпродукт</i>				<i>Б Напівпродукт</i>			
1	Культуральна рідина	кг	7210,00	1	Освітлений фільтрат (1000 од/мл; 6,44 млрд од)	кг	6601,00

Витрачено				Отримано			
№	Найменування сировини та напівпродуктів	Од. виміру	Кількість	№	Найменування кінцевого продукту, відходів і втрат	Од. виміру	Кількість
1	2	3	4	5	6	7	8
2	Вода питна для промивки осаду	кг	200,00				
					В Відходи		
				1	Біомаса продуцента (на утилізацію)	кг	360,00
					Г Втрати		
				1	Із промивними водами та залишками	кг	449,00
	Всього:	кг	7410,00		Всього:	кг	7410,00

ТП 5. Ультрафільтраційне концентрування (коефіцієнт концентрування 1:5)

<i>Б Напівпродукт</i>				<i>Б Напівпродукт</i>			
1	Освітлений фільтрат	кг	6601,00	1	Концентрат ферменту (4900 од/мл; 6,31 млрд од)	кг	1391,00
					В Відходи		
				1	Пермеат (на біологічну очистку)	кг	5178,00
					Г Втрати		
				1	Механічні на мембрані (~ 2 % активності)	кг	32,00
	Всього:	кг	6601,00		Всього:	кг	6601,00

ТП 6. Стандартизація та стабілізація препарату

<i>А Сировина / Б Напівпродукт</i>				<i>Б Напівпродукт</i>			
1	Концентрат ферменту	кг	1391,00	1	Стандартизований препарат (900 од/мл; 6,31 млрд од)	кг	7927,00
2	Сорбіт (70 % розчин) – стабілізатор	кг	2835,00				
3	Натрію хлорид (25 % розчин) – стабілізатор	кг	416,50				
4	Натрію бензоат (20 % розчин) – консервант	кг	115,50				
5	Вода питна	кг	3169,00				
	Всього:	кг	7927,00		Всього:	кг	7927,00

ПМВ 7. Фасування, маркування, відвантаження

<i>Б Напівпродукт / В Матеріали</i>				<i>Б Готовий продукт</i>			
-------------------------------------	--	--	--	--------------------------	--	--	--

								Арк.
								42
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	162.01.03.00 000 ПЗ			

Витрачено				Отримано			
№	Найменування сировини та напівпродуктів	Од. виміру	Кількість	№	Найменування кінцевого продукту, відходів і втрат	Од. виміру	Кількість
1	2	3	4	5	6	7	8
1	Стандартизований препарат	кг	7927,00	1	Препарат «Альфалад БТ» у каністрах 20 л	кг	5494,00
2	Каністра поліетиленова 20 л	шт	243			шт	243
3	Каністра поліетиленова 5 л	шт	278	2	Препарат «Альфалад БТ» у каністрах 5 л	кг	1571,00
4	Каністра поліетиленова 1 л	шт	694			шт	278
5	Етикетка самоклеюча	шт	1215	3	Препарат «Альфалад БТ» у каністрах 1 л	кг	785,00
						шт	694
					Г Втрати		
				1	Технологічні на розливі ($\approx 1\%$)	кг	77,00
	Всього (препарат):	кг	7927,00		Всього:	кг	7927,00

Матеріальний баланс процесу виробництва ферментного препарату «Альфалад БТ» розраховано як збалансовану систему, в якій сумарна маса вхідних потоків дорівнює сумі мас цільового продукту, відходів та неминучих технологічних втрат. Особливу увагу при розрахунках приділено визначенню величини газового уносу (952,00 кг), що є інтегральним показником метаболічної активності продуцента *Bacillus licheniformis*. Дана величина включає масу виділеного діоксиду вуглецю (CO_2), водяної пари та летких компонентів (NH_3).

Врахування газового уносу є обов'язковим для забезпечення замкненості матеріального балансу та відповідає принципам стехіометричного розрахунку аеробних біотехнологічних процесів:

Утворення вуглекислого газу розраховано на основі стехіометрії дихання *B. licheniformis* при окисненні крохмалевмісного субстрату. Розрахунок підтверджує, що при заданій інтенсивності аерації ($\sim 14\ 100\ \text{м}^3$ стерильного

								Арк.
								43
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	162.01.03.00 000 ПЗ			

повітря на серію) виділення CO₂ відповідає метаболічним потребам культури при коефіцієнті дихання (RQ) близькому до одиниці.

Випаровування водяної пари розраховано згідно з психометричними параметрами повітряного потоку при температурі культивування (45–50°C), де вихідне повітря з ферментера досягає стану повного насичення паром.

Втрати аміаку враховано як розрахункову частку від загального обсягу реагенту, що подається для стабілізації рівня рН у ході біосинтезу.

Зазначені розрахункові показники (газовий унос, випаровування при стерилізації, технологічні втрати на стадіях сепарації та ультрафільтрації) базуються на проектних параметрах обладнання та нормативних показниках для промислових аеробних ферментаційних систем. Замкненість матеріального балансу за такою методикою дозволяє з високою точністю прогнозувати наскрізний вихід цільового ферменту та оптимізувати витрати сировини для кожної виробничої серії.

За результатами розрахунку постадійного матеріального балансу встановлено, що для одержання однієї виробничої серії препарату «Альфалад БТ» необхідно витратити: 7493 кг води питної на приготування живильного середовища, 240 кг водяної пари на стерилізацію, 437 кг сухих компонентів середовища (крохмаль кукурудзяний, кукурудзяний екстракт сухий, мінеральні солі), 210 кг 25 %-го водного аміаку для регулювання рН, 21 кг піногасника пропінол Б-400, а також близько 14 100 м³ стерильного повітря на всіх стадіях культивування.

На стадії біосинтезу (ТП 3) маса субстрату розподіляється у процесі метаболізму *Bacillus licheniformis* наступним чином: близько 30 % С-джерела утилізується на побудову біомаси продуцента, ~ 5 % – на синтез і секрецію цільового ферменту (α-амілази), решта (55–60 %) окиснюється до CO₂ та води у процесі дихання. Біомаса при цьому залишається у культуральній рідині та відділяється від цільового ферменту на наступній стадії (ТП 4). Кінцева ферментативна активність у культуральній рідині становить 1000 од/мл, що відповідає сумарній активності 7,0 млрд од за серію.

					162.01.03.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		44

За одну виробничу серію в основному ферментері напрацьовується 7000 л культуральної рідини, з якої після відділення біомаси, ультрафільтраційного концентрування (коефіцієнт 1:5) та стандартизації одержують 7012 л товарного препарату активністю 900 од/мл, що фасується у 1215 одиниць каністр трьох типорозмірів: 243 шт по 20 л; 278 шт по 5 л; 694 шт по 1 л. Загальний матеріальний баланс серії, що зводить дані за всіма стадіями, наведено в табл. 3.2.

Таблиця 3.2

**Загальний матеріальний баланс серії виробництва препарату
«Альфалад БТ»**

Витрачено				Отримано				
№	Найменування сировини та напівпродуктів	Од. виміру	Кількість	№	Найменування кінцевого продукту, відходів і втрат	Од. виміру	Кількість	
1	2	3	4	5	6	7	8	
Загальний матеріальний баланс серії								
<i>А Сировина</i>				<i>А Готовий продукт</i>				
1	Крохмаль кукурудзяний	кг	136,67	1	Препарат «Альфалад БТ» у каністрах 20 л	кг	5494,00	
2	Кукурудзяний екстракт (CSL) сухий	кг	237,00			шт	243	
3	Кальцію хлорид дво-водний	кг	3,95	2	Препарат «Альфалад БТ» у каністрах 5 л	кг	1571,00	
4	Магнію сульфат семи-водний	кг	3,95			шт	278	
5	Калію дигідрофосфат	кг	15,80	3	Препарат «Альфалад БТ» у каністрах 1 л	кг	785,00	
6	Амонію сульфат	кг	39,50			шт	694	
7	Аміак водний 25 %	кг	210,00		В Відходи			
8	Пропінол Б-400 (піногасник)	кг	21,00	1	Біомаса продуцента (на утилізацію)	кг	360,00	
9	Сорбіт (70 % розчин)	кг	2835,00	2	Пермеат УФ (на біоочистку)	кг	5178,00	
10	Натрію хлорид (25 % розчин)	кг	416,50		Г Втрати			
11	Натрію бензоат (20 % розчин)	кг	115,50	1	Газовий унос ТП 3 (CO ₂ , водяна пара, NH ₃)	кг	952,00	
12	Вода питна	кг	10862,00	2	Випаровування при	кг	160,00	
				<i>162.01.03.00 000 ПЗ</i>				
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				Арк.
								45

Витрачено				Отримано			
№	Найменування сировини та напівпродуктів	Од. виміру	Кількість	№	Найменування кінцевого продукту, відходів і втрат	Од. виміру	Кількість
1	2	3	4	5	6	7	8
					стерилізації (ДР 1)		
13	Пара водяна гостра	кг	240,00	3	Технологічні (ДР 2, ТП 4, ТП 5, ПМВ 7)	кг	637,87
14	Штам <i>Bacillus licheniformis</i>	кг	0,003				
	Повітря стерильне	м ³	≈ 14 100				
Б Матеріали							
15	Каністра поліетиленова 20 л	шт	243				
16	Каністра поліетиленова 5 л	шт	278				
17	Каністра поліетиленова 1 л	шт	694				
18	Етикетка самоклеюча	шт	1215				
	Всього:	кг	15136,87		Всього:	кг	15136,87

Розрахункові показники ефективності виробництва: наскрізний вихід цільового ферменту за активністю – 90,2 % (6,31 з 7,00 млрд од); витратний коефіцієнт за основним компонентом середовища (крохмаль кукурудзяний) – $K_p = 136,67 / 6944 \approx 0,020$ кг на 1 л товарного препарату; за 25 %-м водним аміаком – 0,030 кг/л. Отримані результати матеріального балансу є вихідними даними для розрахунку та підбору технологічного обладнання в підрозділі 3.2, у першу чергу для обґрунтування типорозміру основного ферментера й допоміжних апаратів – сепаратора, установки ультрафільтрації, ємностей для стандартизації та фасувальної лінії.

3.2 Розрахунок і вибір основного та допоміжного обладнання

На основі результатів матеріального балансу, наведеного в підрозділі 3.1, виконано розрахунок та обґрунтовано вибір типорозміру основного технологічного обладнання для виробництва ферментного препарату «Альфалад БТ». Об'єктом технічного переоснащення є основний виробничий ферментер для глибинного культивування *Bacillus licheniformis*. Решта обладнання – се-

									Арк.
									46
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	162.01.03.00 000 ПЗ				

паратор, ультрафільтраційна установка, ємності для стандартизації та фасувальна лінія – вибирається з каталогів виробників на підставі продуктивності, розрахованої за матеріальним балансом.

3.2.1 Обґрунтування вибору конструкції ферментера

Глибинне культивування *B. licheniformis* як аеробного спороутворюючого штаму-продуцента α -амілази потребує забезпечення таких ключових технологічних параметрів: інтенсивна аерація (1 vvm стерильного повітря), однорідне перемішування культуральної рідини, точне терморегулювання ($37 \pm 0,5$ °C) та підтримання асептичних умов протягом усього циклу ферментації (~30 год). Зазначені вимоги найкраще задовольняє ферментер вертикального циліндричного типу з механічним перемішувачем, барботером для подачі стерильного повітря, теплообмінною сорочкою та системою стерилізації на місці (SIP).

За результатами аналізу промислових типорозмірів ферментаційного обладнання та з урахуванням розрахованого матеріального балансу (робочий об'єм культуральної рідини 7,0 м³ за серію) обрано ферментер геометричним об'ємом 10 м³ з коефіцієнтом заповнення 0,7. Збільшений об'єм у порівнянні з існуючим обладнанням забезпечує запас продуктивності 25-30 % для покриття зростаючого попиту на ринку ферментних препаратів та компенсації планових простоїв на CIP/SIP, валідаційні цикли та профілактичне обслуговування. Обраний типорозмір відповідає стандартному ряду за ГОСТ 20680-2002 «Аппараты с механическими перемешивающими устройствами. Общие технические условия».

Технічні рішення, прийняті для конструкції ферментера, обґрунтовуються наступним чином:

- **корпус – циліндричний з двома еліптичними днищами** за ГОСТ 6533-78. Така геометрія забезпечує рівномірне перемішування культуральної рідини, відсутність застійних зон і повне зливання продукту через нижнє днище;

					162.01.03.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		47

• **матеріал корпусу – нержавіюча сталь 12X18H10T** (аналог AISI 316L) товщиною 6 мм. Сталь стійка до корозії в умовах культурального середовища та регулярної стерилізації гострою парою; відповідає вимогам контакту з харчовою та фармацевтичною продукцією. Внутрішня поверхня електрополірована до $Ra \leq 0,4$ мкм для запобігання адгезії мікроорганізмів та забезпечення ефективної СІР-обробки;

• **перемішувач – три турбінні шестилопатеві мішалки Раштона**, встановлені на спільному вертикальному валу з верхнім приводом. Турбінна мішалка створює інтенсивну радіальну циркуляцію культуральної рідини, забезпечує ефективне диспергування газових бульбашок і високий коефіцієнт масопередачі кисню ($kLa = 0,05-0,15 \text{ c}^{-1}$), що є критичним для активного аеробного метаболізму *B. licheniformis* та синтезу α -амілази. Використання трьох мішалок на валу пов'язане з великою висотою стовпа рідини (співвідношення $H/D \approx 2,35$) і дозволяє підтримувати рівномірність концентрації розчиненого кисню по всій висоті апарата;

• **аерація – кільцевий барботер**, встановлений під нижньою мішалкою. Розташування барботера під мішалкою забезпечує миттєве диспергування газового потоку лопатями турбіни, що значно підвищує коефіцієнт масопередачі у порівнянні з використанням одного барботера без перемішування;

• **теплообмін – зовнішня теплообмінна сорочка** на циліндричній частині корпусу та нижньому днищі. Для процесу культивування *B. licheniformis* за помірних температур (37 °С) сорочки достатньо для забезпечення необхідного тепловідводу метаболічного тепла; внутрішніх змішувачів не передбачено, оскільки вони ускладнюють СІР-обробку та створюють додаткові застійні зони;

• **відбійники (бафлі) – чотири вертикальні пластини** шириною $D/12$, розташовані вздовж стінки апарата під кутом 90° одна до одної. Відбійники руйнують вирвоподібний потік рідини, що утворюється при обертанні мішалки, та запобігають утворенню воронки на поверхні рідини;

					162.01.03.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		48

- **опора – юбочна (циліндрична)** з подвійними косинками-ребрами жорсткості (gusset plates), що забезпечує стійкість апарата у вертикальному положенні, рівномірний розподіл навантаження на фундамент і вільний доступ до нижніх штуцерів та зливного клапана;

- **система стерилізації SIP** з подачею насиченої водяної пари (тиск 0,2 МПа, температура 121 °С, тривалість 30 хв) безпосередньо в апарат; **SIP-система** з мийною головкою (spray ball), що розташована у верхній частині апарата та забезпечує миття внутрішньої поверхні струменем мийного розчину під тиском.

Загальний вигляд ферментера наведено на рис. 3.1.

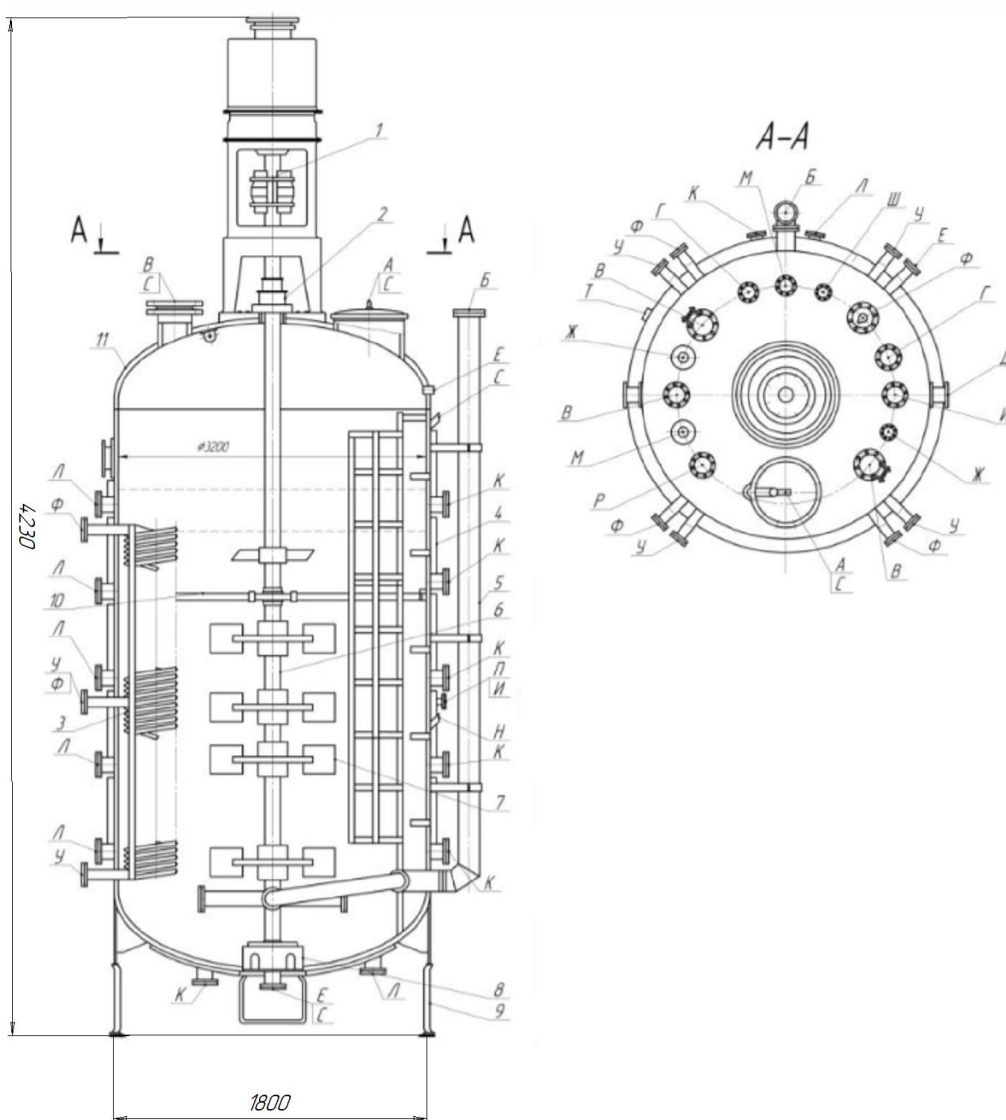


Рис. 3.1 – Загальний вигляд ферментера моделі Ф-63-1К-01.

									162.01.03.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата						49

3.2.2 Конструктивний розрахунок ферментера

Вихідні дані для розрахунку:

геометричний об'єм апарата $V_{\phi} = 10 \text{ м}^3$; коефіцієнт заповнення $\phi = 0,7$; робочий об'єм культуральної рідини $V_p = 7,0 \text{ м}^3$; робочий тиск в апараті $P = 0,3 \text{ МПа}$; тиск у сорочці $P_c = 0,35 \text{ МПа}$; температура процесу $t_{\text{пр}} = 37 \text{ }^\circ\text{C}$; температура стерилізації $t_{\text{ст}} = 121 \text{ }^\circ\text{C}$; матеріал корпусу – сталь 12Х18Н10Т, допустиме напруження $\sigma = 138 \text{ МПа}$; коефіцієнт зварного шва $\phi_{\text{ш}} = 0,9$; допуск на корозію $C = 2 \text{ мм}$.

Внутрішній діаметр апарата визначаємо з геометричного об'єму при співвідношенні $H/D \approx 2,5$ (типове для аеробних бактеріальних процесів):

$$D = \sqrt[3]{(2 \cdot V_{\phi} / \pi)} = \sqrt[3]{(2 \cdot 10 / 3,14)} = 1,85 \text{ м.}$$

За стандартним рядом діаметрів ГОСТ 9617-76 приймаємо **D = 1800 мм**.

Висота випуклої частини еліптичного днища за ГОСТ 6533-78:

$$h_{\text{дн}} = D / 4 = 1800 / 4 = 450 \text{ мм.}$$

Об'єм одного еліптичного днища:

$$V_{\text{дн}} = \pi \cdot D^3 / 24 = 3,14 \cdot 1,8^3 / 24 = 0,763 \text{ м}^3 = 763 \text{ л.}$$

Висота циліндричної частини корпусу:

$$H_{\text{цил}} = (V_{\phi} - 2 \cdot V_{\text{дн}}) / (\pi \cdot D^2 / 4) = (10 - 2 \cdot 0,763) / (3,14 \cdot 1,8^2 / 4) = 3,33 \text{ м} = 3330 \text{ мм.}$$

Повна висота корпусу ферментера:

$$H_{\text{п}} = H_{\text{цил}} + 2 \cdot h_{\text{дн}} = 3330 + 2 \cdot 450 = 4230 \text{ мм.}$$

Співвідношення повної висоти до діаметра становить $H/D = 4230 / 1800 = 2,35$, що відповідає рекомендованому інтервалу 2,0–3,0 для ферментерів аеробного типу і забезпечує достатній газовий простір над культуральною рідиною для запобігання винесенню піни.

Висота стовпа культуральної рідини при робочому об'ємі $7,0 \text{ м}^3$:

$$H_p = (V_p - V_{\text{дн}}) / (\pi \cdot D^2 / 4) + h_{\text{дн}} = (7,0 - 0,763) / 2,54 + 0,45 = 2,90 \text{ м.}$$

Розрахунковий тиск з урахуванням гідростатичного стовпа культуральної рідини:

					162.01.03.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		50

$$P_p = P + \rho \cdot g \cdot H_p = 0,3 + 1030 \cdot 9,81 \cdot 2,90 / 10^6 = 0,329 \text{ МПа.}$$

Розрахункова товщина циліндричної обичайки за ГОСТ 14249-89:

$$\begin{aligned} \delta_{об} &= (P_p \cdot D) / (2 \cdot \sigma \cdot \phi_{ш} - P_p) + C = \\ &= (0,329 \cdot 1800) / (2 \cdot 138 \cdot 0,9 - 0,329) + 2 = 4,6 \text{ мм.} \end{aligned}$$

За стандартним рядом товщин листового прокату приймаємо **$\delta_{об} = 6$ мм** (з урахуванням запасу на стерилізаційні цикли та технологічний запас на зварювання).

Розрахункова товщина еліптичного днища за тією ж нормою:

$$\begin{aligned} \delta_{дн} &= (P_p \cdot D) / (4 \cdot \sigma \cdot \phi_{ш} - P_p) + C = \\ &= (0,329 \cdot 1800) / (4 \cdot 138 \cdot 0,9 - 0,329) + 2 = 3,3 \text{ мм.} \end{aligned}$$

Приймаємо **$\delta_{дн} = 8$ мм** (товщина днища традиційно більша за товщину обичайки внаслідок концентрації напружень у місцях переходу та необхідності підкріплення штуцерів).

Конструкція ферментера представлена на рис. 3.1 та у табл. 3.3.

Таблиця 3.3

Основні конструктивні розміри ферментера

Параметр	Позначення	Значення
Геометричний об'єм	V_{ϕ}	10 м ³
Робочий об'єм	V_p	7,0 м ³
Внутрішній діаметр	D	1800 мм
Висота циліндричної частини	H _{цил}	3330 мм
Висота випуклої частини днища	h _{дн}	450 мм
Повна висота корпусу	H _п	4230 мм
Висота стовпа рідини	H _p	2900 мм
Товщина обичайки	$\delta_{об}$	6 мм
Товщина днища	$\delta_{дн}$	8 мм

Параметр	Позначення	Значення
Робочий тиск у апараті	P	0,3 МПа
Тиск у сорочці	Pc	0,35 МПа
Робоча температура	t	37 °С

3.2.3 Розрахунок перемішуючого пристрою

Для забезпечення інтенсивного перемішування та диспергування газу обрано турбінну шестилопатеву мішалку Раштона – стандартну конструкцію для аеробних бактеріальних ферментерів.

Діаметр мішалки приймаємо за класичним співвідношенням $d_m = D/3$:

$$d_m = D / 3 = 1800 / 3 = 600 \text{ мм.}$$

Кількість мішалок на валу визначається висотою стовпа культуральної рідини. При співвідношенні $H_p/d_m = 2900/600 \approx 4,8$ і для забезпечення рівномірного перемішування по всій висоті стовпа рідини **приймаємо 3 турбінні мішалки**, встановлені на спільному валу з кроком близько $H_{цил}/3 \approx 1100$ мм. Висота нижньої мішалки над дном – 600 мм (на рівні барботера).

Частоту обертання приймаємо $n = 3,0 \text{ с}^{-1}$ (180 об/хв) – у межах рекомендованого діапазону $2,67\text{--}3,33 \text{ с}^{-1}$ для бактеріальних ферментерів. Перевіримо режим перемішування за критерієм Рейнольдса:

$$Re = \rho \cdot n \cdot d_m^2 / \mu = 1030 \cdot 3,0 \cdot 0,6^2 / 1,5 \cdot 10^{-3} = 7,4 \cdot 10^5,$$

де $\rho = 1030 \text{ кг/м}^3$ – густина культуральної рідини; $\mu = 1,5 \cdot 10^{-3} \text{ Па} \cdot \text{с}$ – динамічна в'язкість. Оскільки $Re > 10^4$, режим перемішування **розвинений турбулентний**, що забезпечує максимальну ефективність масопередачі.

Потужність, яка витрачається на перемішування однієї турбінної мішалкою Раштона у турбулентному режимі за наявності відбійників, розраховується за критеріальним рівнянням з критерієм потужності $KN = 6,1$:

$$N_1 = KN \cdot \rho \cdot n^3 \cdot d_m^5 = 6,1 \cdot 1030 \cdot 3,0^3 \cdot 0,6^5 = 13\,200 \text{ Вт} \approx 13,2 \text{ кВт.}$$

Загальна потужність трьох мішалок на валу:

$$N_{\text{заг}} = N_1 \cdot 3 = 13,2 \cdot 3 \approx 40 \text{ кВт.}$$

					162.01.03.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		52

З урахуванням зниження потужності при барботажі повітря на 30 % (газонасичення зменшує густину середовища):

$$N_{\text{газ}} = N_{\text{заг}} \cdot 0,7 = 40 \cdot 0,7 \approx 28 \text{ кВт.}$$

Необхідна потужність електродвигуна приводу з урахуванням ККД механічної передачі $\eta_{\text{пр}} = 0,85$:

$$N_{\text{дв}} = N_{\text{газ}} / \eta_{\text{пр}} = 28 / 0,85 \approx 33 \text{ кВт.}$$

За стандартним рядом електродвигунів приймаємо **асинхронний електродвигун потужністю 37 кВт**, з частотним перетворювачем для регулювання частоти обертання у діапазоні 0–250 об/хв.

Розрахунок відбійників. Для забезпечення розвиненого турбулентного режиму та запобігання утворенню воронки встановлюємо 4 вертикальні відбійники вздовж стінки апарата, шириною:

$$b = D / 12 = 1800 / 12 = 150 \text{ мм.}$$

Відстань від стінки апарата до відбійника – 50 мм (зазор для запобігання застійних зон при СІР-обробці).

3.2.4 Розрахунок барботера

Для забезпечення подачі стерильного повітря в культуральну рідину обрано барботер кільцевого типу, встановлений під нижньою турбінною мішалкою. Розташування барботера безпосередньо під мішалкою забезпечує миттєве диспергування газового потоку лопатями турбіни та утворення дрібних бульбашок з високою питомою поверхнею контакту газ–рідина.

Витрата стерильного повітря приймається 1 vvm (volume of air per volume of liquid per minute):

$$Q_{\text{пов}} = 1 \cdot V_{\text{р}} = 1 \cdot 7,0 = 7,0 \text{ м}^3/\text{хв} = 420 \text{ м}^3/\text{год.}$$

Діаметр кільця барботера приймається $0,7 \cdot D$, тобто розташовується по периметру всередині радіуса мішалки для оптимального диспергування:

$$D_{\text{б}} = 0,7 \cdot D = 0,7 \cdot 1800 = 1260 \text{ мм.}$$

Швидкість повітря в отворах приймаємо $v = 25 \text{ м/с}$ (рекомендовано 20–30 м/с для запобігання коалесценції бульбашок). Загальна площа отворів:

$$S_{\text{отв}} = Q_{\text{пов}} / (v \cdot 60) = 7,0 / (25 \cdot 60) = 4,67 \cdot 10^{-3} \text{ м}^2 = 46,7 \text{ см}^2.$$

					162.01.03.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		53

При діаметрі отворів $\text{dotв} = 3$ мм кількість отворів:

$$n_{\text{отв}} = S_{\text{отв}} / (\pi \cdot \text{dotв}^2 / 4) = 46,7 / (3,14 \cdot 0,3^2 / 4) = 660 \text{ шт.}$$

Барботер виготовляють з труби нержавіючої сталі 12Х18Н10Т зовнішнім діаметром 50 мм; отвори діаметром 3 мм рівномірно розподілені по нижній поверхні кільця для запобігання потраплянню культуральної рідини в трубу при зниженні тиску повітря.

3.2.5 Тепловий розрахунок

Мета теплового розрахунку – визначити необхідну поверхню теплообміну сорочки для відведення тепла, яке виділяється в процесі ферментації, та витрату охолоджуючої води. Тепловиділення в ферментері складається з трьох основних джерел:

1. Метаболічне тепло мікроорганізмів. Для аеробного культивування *V. licheniformis* питоме тепловиділення становить ~ 15 кДж на грам утилізованого вуглецевого субстрату. Маса субстрату (крохмаль кукурудзяний + CSL сухий), яка окиснюється в процесі дихання (~ 55 % від загальної маси сировини, інша частина іде на синтез біомаси та ферменту), складає:

$$m_{\text{окс}} = (136,67 + 237,00) \cdot 0,55 = 205 \text{ кг} = 205\,000 \text{ г.}$$

Загальна кількість метаболічного тепла за серію:

$$Q_{\text{мет}} = m_{\text{окс}} \cdot q_{\text{пит}} = 205\,000 \cdot 15 = 3\,080\,000 \text{ кДж} = 3\,080 \text{ МДж.}$$

Середня потужність метаболічного тепловиділення при тривалості ферментації $\tau = 30$ год:

$$Q_{\text{м}} = Q_{\text{мет}} / \tau = 3\,080 \cdot 10^6 / (30 \cdot 3600) = 28\,500 \text{ Вт} \approx 28,5 \text{ кВт.}$$

2. Тепло від перемішування. Уся механічна енергія, що витрачається на перемішування, перетворюється на тепло:

$$Q_{\text{мш}} = N_{\text{газ}} = 28 \text{ кВт.}$$

3. Тепло аерації. Складає близько 10 % від енергії перемішування (стиснення повітря, тертя газового потоку):

$$Q_{\text{а}} = 0,1 \cdot N_{\text{газ}} = 0,1 \cdot 28 = 2,8 \text{ кВт.}$$

Сумарне тепловиділення в апараті:

$$Q_{\text{заг}} = Q_{\text{м}} + Q_{\text{мш}} + Q_{\text{а}} = 28,5 + 28,0 + 2,8 \approx 59 \text{ кВт.}$$

					162.01.03.00 000 ПЗ	Арк.
						54
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Розрахунок поверхні теплообміну. Як охолоджуючий агент використовують технічну воду з температурою на вході $t_{в1} = 12 \text{ }^\circ\text{C}$ і на виході $t_{в2} = 25 \text{ }^\circ\text{C}$. Середня логарифмічна різниця температур:

$$\Delta t_{cp} = t_{np} - (t_{в1} + t_{в2})/2 = 37 - 18,5 = 18,5 \text{ }^\circ\text{C}.$$

Коефіцієнт теплопередачі від культуральної рідини через стінку до охолоджуючої води в сорочці приймаємо $K = 400 \text{ Вт}/(\text{м}^2 \cdot \text{К})$ (характерне значення для нержавіючої сталевих стінки з примусовою циркуляцією води в сорочці). Необхідна поверхня теплообміну:

$$F_p = Q_{заг} / (K \cdot \Delta t_{cp}) = 59\,000 / (400 \cdot 18,5) \approx 8,0 \text{ м}^2.$$

Розрахунок наявної поверхні сорочки. Сорочка охоплює циліндричну частину корпусу та нижнє еліптичне днище.

Поверхня циліндричної частини:

$$F_{цил} = \pi \cdot D \cdot H_{цил} = 3,14 \cdot 1,8 \cdot 3,33 \approx 18,8 \text{ м}^2.$$

Поверхня нижнього еліптичного днища (з коефіцієнтом форми 1,2):

$$F_{дн} = 1,2 \cdot \pi \cdot D^2/4 = 1,2 \cdot 3,14 \cdot 1,8^2/4 \approx 3,1 \text{ м}^2.$$

Загальна доступна поверхня сорочки:

$$F_d = F_{цил} + F_{дн} = 18,8 + 3,1 \approx 21,9 \text{ м}^2.$$

Оскільки $F_d = 21,9 \text{ м}^2 > F_p = 8,0 \text{ м}^2$, **сорочка ферментера забезпечує необхідний тепловідвід з запасом ~170 %**. Запас теплопередачі необхідний для забезпечення швидкого охолодження середовища після стерилізації (від $121 \text{ }^\circ\text{C}$ до $37 \text{ }^\circ\text{C}$ приблизно за 30–40 хв) та компенсації пікових тепловиділень у фазі активного росту культури.

Витрата охолоджуючої води для відведення сумарного теплового потоку:

$$G_{в} = Q_{заг} / (c_{в} \cdot (t_{в2} - t_{в1})) = 59\,000 / (4180 \cdot 13) = 1,08 \text{ кг/с} = 3,9 \text{ м}^3/\text{год}.$$

Виконані в підрозділі 3.2 розрахунки та обґрунтування вибору технологічного обладнання забезпечують реалізацію розрахованого в підрозділі 3.1 матеріального балансу та технічне переоснащення виробництва ферментного препарату «Альфалад БТ» з підвищенням продуктивності на 25–30 % порівняно з діючим виробництвом.

					<i>162.01.03.00 000 ПЗ</i>	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		55

3.3 Опис технологічного процесу

Технологічний процес виробництва ферментного препарату «Альфалад БТ» (альфа-амілаза бактеріальна високотемпературна) на ПрАТ «ENZIM Biotech» здійснюється методом глибинного (субмерсного) періодичного культивування штаму-продуцента *Bacillus licheniformis* з подальшим виділенням, концентруванням, стандартизацією та фасуванням готового препарату у тару споживчого призначення.

Розробка виробничих документів виконана відповідно до Настанови МОЗ України СТ-Н МОЗУ 42-4.0:2020 «Лікарські засоби. Належна виробнича практика» та Настанови МОЗ України 42-01-2003 «Лікарські засоби. Технологічний процес. Документація». Технологічний процес поділено на стадії та операції, кожна з яких має наскрізну нумерацію за порядком виконання. Використано такі умовні позначення: **ДР** – стадії допоміжних робіт; **ТП** – стадії основного технологічного процесу; **ПМВ** – стадії пакування, маркування та відвантаження готового продукту. Контрольні точки на кожній стадії позначаються як **К Х.У.З**, де Х – номер стадії, У – номер операції, З – порядковий номер точки контролю. Перелік критичних контрольних точок із параметрами, методами контролю та критеріями прийнятності наведено в таблиці 3.9 (підрозділ 3.5).

Технологічний процес виробництва препарату «Альфалад БТ» складається з таких стадій:

- ДР 1. Санітарна підготовка виробництва;
- ДР 2. Приготування і стерилізація живильного середовища;
- ДР 3. Підготовка посівного матеріалу;
- ТП 4. Виробничий біосинтез;
- ТП 5. Сепарація біомаси;
- ТП 6. Ультрафільтраційне концентрування;
- ТП 7. Стандартизація та стабілізація;
- ПМВ 8. Фасування, маркування та відвантаження.

					162.01.03.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		56

Стадія ДР 1. Санітарна підготовка виробництва

Санітарна підготовка виробництва здійснюється відповідно до вимог Настанови СТ-Н МОЗУ 42-4.0:2020 «Лікарські засоби. Належна виробнича практика», ДСП 9.9.5-080-2002 «Правила влаштування і експлуатації приміщень підприємств біотехнологічного та мікробіологічного профілю» та принципів НАССР за ДСТУ ISO 22000:2019. Стадія включає три послідовні операції.

Операція ДР 1.1. Підготовка приміщень

Щозмінне вологе прибирання виробничих приміщень з застосуванням дезінфікуючих засобів (хлорамін Б, водний розчин 0,5–1,0 %, або гіпохлорит натрію 0,1–0,3 %). Стерильність повітря у виробничих приміщеннях класу D (за GMP) забезпечується каскадною фільтрацією через попередній фільтр G4, фільтр середньої очистки F9 та HEPA-фільтр H13 з ефективністю затримання часток 0,3 мкм не менше 99,95 %. Контроль санітарного стану повітря та поверхонь здійснюється методом змивів за ДСТУ ISO 18593.

Операція ДР 1.2. Підготовка обладнання (CIP/SIP)

Миття та дезінфекція технологічного обладнання здійснюється за схемою CIP/SIP (Clean-in-Place / Sterilization-in-Place). CIP-цикл включає послідовну обробку розчином лугу (NaOH 1,5–2,0 % при 75–80 °C, 20 хв), проміжне ополіскування знесолоною водою, обробку розчином кислоти (HNO₃ 1,0 % при 65–70 °C, 15 хв) та фінальне ополіскування водою для ін'єкцій. SIP-стерилізація обладнання проводиться насиченою водяною парою при 121 °C протягом 30 хв з контролем температури за допомогою термопар та реєстрацією параметрів у системі SCADA.

Операція ДР 1.3. Підготовка персоналу та технологічного одягу

Персонал перед початком зміни проходить медичний огляд (включаючи контроль на носійство патогенних мікроорганізмів), переодягається у санітарний одяг, обробляє руки дезінфікуючим розчином та проходить санітарний шлюз. Технологічний одяг (комбінезон, головний убір, бахіли) стерилізують в автоклаві при 121 °C протягом 30 хв або обробляють γ -

									Арк.
									57
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	162.01.03.00 000 ПЗ				

випромінюванням. Результати щозмінного контролю реєструються у журналах санітарної обробки, дезінфекції та мікробіологічного контролю. Стадія санітарної підготовки виробництва не включає матеріальних потоків сировини і не відображається у матеріальному балансі виробництва.

Стадія ДР 2. Приготування і стерилізація живильного середовища

Метою стадії є приготування стерильного живильного середовища у кількості, достатній для покриття потреб усіх трьох ступенів культивування *Bacillus licheniformis* з урахуванням втрат при стерилізації. Стадія включає чотири послідовні операції.

Операція ДР 2.1. Зважування і дозування компонентів

Сухі компоненти живильного середовища, що надходять зі складу сировини, послідовно зважуються на промислових вагах КП 1 (тип електронні підлогові з межами зважування 50–1500 кг, точність $\pm 0,1$ %) у такій кількості: крохмаль кукурудзяний – 136,67 кг (за ДСТУ 3976:2007), кукурудзяний екстракт сухий – 237,00 кг, амонію сульфат – 39,50 кг (за ГОСТ 3769), калію дигідрофосфат – 15,80 кг (за ГОСТ 4198), магнію сульфат семиводний – 3,95 кг (за ГОСТ 4523), кальцію хлорид двоводний – 3,95 кг. Кожна партія сировини супроводжується паспортом якості постачальника та проходить вхідний контроль за показниками, передбаченими у таблиці 2.2.

Операція ДР 2.2. Приготування живильного середовища

У реактор Р 3 ($V = 10$ м³, з лопатевою мішалкою $N = 11$ кВт та сорочкою терморегулювання) подають 7493 л води питної (за ДСТУ 7525:2014) зі збірника З 1, попередньо нагрітої до 50–60 °С. При безперервному перемішуванні ($n = 80$ об/хв) послідовно завантажують зважені на КП 1 сухі компоненти середовища. Перемішування у реакторі Р 3 продовжують протягом 30 хв до повного розчинення солей та утворення однорідної суспензії. Контролюють вміст сухих речовин рефрактометрично (К 2.2.1), який має становити $5,5 \pm 0,5$ %; за необхідності коригують додаванням води зі збірника З 1 або сухих компонентів.

Операція ДР 2.3. Стерилізація живильного середовища

					162.01.03.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		58

Стерилізацію проводять у тому ж реакторі Р 3 періодичним способом з подачею гострої насиченої водяної пари безпосередньо в апарат із загально-цехового парогенератора. Пара тиском 0,2 МПа подається у середовище через барботер реактора, чим забезпечується швидке прогрівання вмісту апарата до 121 °С з одночасною конденсацією приблизно 3 % маси пари у середовищі (240 кг). При досягненні температури 121 °С витримують 30 ± 2 хв (**К 2.3.1**). Температуру стерилізації контролюють за допомогою термопар Pt-100 з реєстрацією у SCADA. Стерильність середовища після SIP контролюють методом висіву проб на м'ясо-пептонний агар (МПА), сусло-агар (СА) та середовище Сабуро (ССА) з інкубацією при 37 °С протягом 48 год (**К 2.3.2**).

Операція ДР 2.4. Охолодження стерильного середовища

Простерилізоване середовище подається з реактора Р 3 у пластинчастий теплообмінник Т 4 (поверхня $F = 12 \text{ м}^2$) для швидкого охолодження методом flash-охолодження від 121 °С до температури культивування 37 °С з рекуперацією тепла. Близько 2 % води при цьому випаровується разом з відхідним повітрям (160 кг). Готове стерильне середовище зберігається в стерильних умовах і використовується протягом 24 год.

Стадія ДР 3. Підготовка посівного матеріалу

Виробничий посівний матеріал готують у три послідовні ступені за схемою «лабораторні колби → інокулятор Р 5 → посівний ферментер Р 6» зі співвідношенням об'ємів 1:10 між суміжними ступенями. Метою стадії є отримання 700 л життєздатного активного посівного матеріалу *V. licheniformis* з титром клітин не менше 1,5 г/л абсолютно сухої біомаси (АСБ) для засіву основного ферментера Р 7.

Операція ДР 3.1. Отримання маточної культури

Робочу культуру *V. licheniformis* відбирають з кріоконсервованого банку штамів-продуцентів виробничої колекції підприємства (умови зберігання – у рідкому азоті при $-196 \text{ }^\circ\text{C}$, у середовищі з 10 % гліцерину як кріопротектора). Кріовіал розморожують у водяній бані при 37 °С та переносять 1 мл культури у качалкову колбу Ерленмеєра об'ємом 750 мл, що містить 100 мл

									Арк.
									59
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	162.01.03.00 000 ПЗ				

стерильного середовища. Колбу інкубують на термостатованій качалці при температурі 37 °С та частоті обертання 220 об/хв протягом 18–20 год. Чистоту та морфологію культури контролюють мікроскопічно (фарбування за Грамом) (**К 3.1.1**): культура має складатися виключно з типових грампозитивних паличок розмірами 1,5–6,0 × 0,6–0,8 мкм. Загальний об'єм лабораторного посівного матеріалу – 7 л.

Операція ДР 3.2. Вирощування продуцента в інокуляторі

Реактор-інокулятор Р 5 (V = 100 л, з механічною мішалкою N = 2 кВт та сорочкою терморегулювання) заповнюють 63 л стерильного живильного середовища, що надійшло з реактора Р 3 через теплообмінник Т 4. Засів проводять 7 л культури з лабораторних колб через стерильний шланговий з'єднувач. Культивування у Р 5 здійснюється при температурі 37 °С, рН 6,8–7,2 (підтримується автоматичним дозуванням 25 %-го водного аміаку зі збірника З 17), аерації стерильним повітрям 1 vvm та перемішуванні турбінною мішалкою при 220 об/хв. Тривалість стадії – 16–18 год до досягнення концентрації біомаси не менше 1,5 г/л АСБ. Чистоту культури (**К 3.2.1**) та концентрацію біомаси (**К 3.2.2**) контролюють перед перенесенням на наступну стадію.

Операція ДР 3.3. Вирощування продуцента у посівному ферментері

Посівний ферментер Р 6 (V = 1000 л, з турбінною мішалкою Раштона N = 7,5 кВт, сорочкою терморегулювання та барботером) заповнюють 630 л стерильного живильного середовища, додають 70 л виробничого інокуляту з реактора-інокулятора Р 5. Параметри культивування у Р 6 аналогічні попередній стадії: 37 °С, рН 6,8 ± 0,2, аерація 1 vvm, перемішування турбінною мішалкою при 180 об/хв. Тривалість – 14–16 год. Перед перенесенням на основний ферментер визначають концентрацію біомаси гравіметричним методом (**К 3.3.1**), яка має становити не менше 1,5 г/л АСБ. Чистоту культури контролюють додатково (**К 3.3.2**). Готовий виробничий інокулят (700 л) з посівного ферментера Р 6 подають у основний виробничий ферментер Р 7 за допомогою стерильної перевідної магістралі під надлишковим тиском стерильного повітря.

					162.01.03.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		60

Стадія ТП 4. Виробничий біосинтез

Стадія є основною у технологічному процесі та забезпечує цільовий біосинтез α -амілази культурою *Bacillus licheniformis* у промисловому ферментері Р 7 об'ємом 10 м³ (D = 1800 мм, Н = 4230 мм, конструкція якого детально описана у підрозділі 3.2). Стадія включає три послідовні операції.

Операція ТП 4.1. Засів виробничого ферментера

У попередньо простерилізований ферментер Р 7 (SIP – 121 °С, 30 хв) подають 7000 л стерильного живильного середовища з реактора Р 3 через теплообмінник Т 4 (масою 7210 кг), потім – 700 л виробничого інокуляту з посівного ферментера Р 6 за допомогою стерильної перевідної магістралі. Початкова концентрація біомаси у ферментері Р 7 становить ~ 0,15 г/л АСБ (**К 4.1.1**). Перед засіванням культури налаштовують усі системи моніторингу та автоматичного управління – терморегуляцію, регулювання рН (зі збірника аміаку З 17), подачу стерильного повітря, перемішування.

Операція ТП 4.2. Культивування продуцента

Виробничий біосинтез у ферментері Р 7 проводять за таких параметрів:

- температура культивування – $37 \pm 0,5$ °С, підтримується автоматично подачею охолоджуючої води в зовнішню сорочку ферментера, постійний моніторинг через датчики Pt-100 (К 4.2.1);
- рН культуральної рідини – $6,8 \pm 0,2$, автоматично підтримується дозованою подачею 25 %-го водного аміаку зі збірника З 17 через перистальтичну помпу (на серію витрачається близько 210 кг розчину), що одночасно слугує джерелом азоту для біосинтезу (К 4.2.2);
- концентрація розчиненого кисню (DO) – не менше 30 % від насичення, підтримується регулюванням витрати повітря та інтенсивності перемішування, моніторинг поляграфічним датчиком (К 4.2.3);
- витрата стерильного повітря – $7,0 \pm 0,5$ м³/хв (відповідає 1 vvm); повітря попередньо проходить каскад фільтрації через НЕРА-фільтр 0,2 мкм та подається через кільцевий барботер під нижньою мішалкою (К 4.2.4);

					162.01.03.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		61

- частота обертання турбінних мішалок Раштона – 180 об/хв (3 турбіни на спільному валу);
- піногасіння – за необхідністю автоматичним дозуванням пропінолу Б-400 (загальна витрата 21 кг на серію);
- тривалість ферментації – 30 ± 2 год до досягнення цільової активності α -амілази.

Кожні 4 год від початку процесу здійснюють відбір проб культуральної рідини для контролю активності α -амілази фотометричним йод-крохмальним методом за DIN 10523 (**К 4.2.5**), концентрації редукуючих цукрів DNS-методом (**К 4.2.6**) та концентрації біомаси гравіметрично. Біосинтез вважається завершеним при досягненні активності у культуральній рідині не менше 1000 од/мл; на цьому етапі сумарна активність ферменту в апараті становить близько 7,0 млрд од на серію. Кожні 8 год обов'язково проводять мікробіологічний контроль на відсутність сторонньої мікрофлори (**К 4.2.7**); у разі виявлення контамінації серія бракується.

Операція ТП 4.3. Охолодження культуральної рідини

По завершенні біосинтезу систему перемішування у ферментері Р 7 зупиняють, припиняють подачу повітря та аміаку, культуральну рідину швидко охолоджують до 4–8 °С через сорочку ферментера для гальмування метаболізму та запобігання інактивації ферменту (**К 4.3.1**). Охолоджена культуральна рідина у кількості 7000 л подається насосом Н 8 на наступну стадію – ТП 5.

Стадія ТП 5. Сепарація біомаси

Стадія забезпечує відділення біомаси продуцента від цільового позаклітинного ферменту, який знаходиться у розчиненому стані у культуральній рідині. Задача – отримати освітлений фільтрат із збереженням ферментативної активності.

Операція ТП 5.1. Сепарація біомаси

Сепарація біомаси здійснюється на дисковому саморозвантажувальному сепараторі Ф 9 (тип ALFA LAVAL SA 45 або аналог) продуктивністю 5–7 м³/год при швидкості обертання барабана 6000 об/хв. Культуральна рідина

					162.01.03.00 000 ПЗ	Арк.
						62
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

(7000 л) подається з ферментера Р 7 на сепаратор Ф 9 насосом Н 8, температура процесу – 4–10 °С для запобігання інактивації ферменту. У результаті відділяється близько 360 кг вологої біомаси (вологість ~ 80 %), яка направляється на утилізацію (термічне знешкодження або компостування – детальніше у підрозділі 3.6). Освітлена фракція (близько 6800 л з активністю не менше 950 од/мл (**К 5.1.1**) та оптичною густиною $A_{600} \leq 0,15$ (**К 5.1.2**)) надходить на наступну стадію – ТП 6.

Стадія ТП 6. Ультрафільтраційне концентрування

Метою стадії є зменшення об'єму ферментного розчину у 5 разів шляхом видалення значної частини води та низькомолекулярних домішок (солей, амінокислот, цукрів), що дозволяє суттєво зменшити витрати стабілізаторів на наступній стадії стандартизації. Стадія включає дві послідовні операції, обидві з яких виконуються на установці Ф 10.

Операція ТП 6.1. Мікрофільтрація (префільтрація)

Освітлений фільтрат після сепарації проходить через вбудовану у вхідний модуль установки Ф 10 секцію мікрофільтрації з мембранами 0,2 мкм. На цьому етапі відділяються залишкові часточки біомаси, спори та інші завислі домішки, які могли потрапити з сепаратора Ф 9. Прозорість фільтрату після мікрофільтрації (**К 6.1.1**) має становити $A_{600} \leq 0,05$. Мікрофільтрація як попередня стадія перед основною ультрафільтрацією значно подовжує термін служби керамічних УФ-мембран та забезпечує стабільність процесу концентрування.

Операція ТП 6.2. Ультрафільтрація

Концентрування здійснюється у тангенціальному режимі на керамічних мембранах з відсіканням за молекулярною масою 10 кДа (молекулярна маса α -амілази *V. licheniformis* становить ~ 58 кДа, тому фермент повністю затримується мембраною). Робоча температура процесу – 4–10 °С, трансмембранний тиск 0,2–0,4 МПа (**К 6.2.1**), швидкість потоку 5–7 м³/год на 1 м² мембрани. Робоча площа мембран – 25 м². Освітлений фільтрат об'ємом 6440 л проходить через мембрану з коефіцієнтом концентрування 1:5; у результаті

										Арк.
										63
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	162.01.03.00 000 ПЗ					

отримують 1288 л концентрату ферменту з активністю 4900 ± 100 од/мл (**К 6.2.2**) та 5152 л пермеату. Сумарна активність у концентраті – 6,31 млрд од на серію, що відповідає виходу 90,2 % від активності у культуральній рідині. Активність у пермеаті контролюється для оцінки втрат (**К 6.2.3**) і не повинна перевищувати 50 од/мл (втрати менше 2 %). Концентрат ферменту накопичується у збірнику концентрату З 11 ($V = 2$ м³, з сорочкою охолодження 4–10 °С) до подальшої стандартизації. Пермеат направляється на біологічну очистку у складі виробничих стічних вод.

Стадія ТП 7. Стандартизація та стабілізація

Стандартизація – це доведення концентрату ферменту до заданих характеристик товарного препарату «Альфалад БТ» згідно з вимогами ТУ виробника: активність 900 ± 20 од/мл, відповідні значення рН, осмолярності та концентрації стабілізаторів і консерванту. Стадія включає дві послідовні операції, що виконуються у реакторі-стандартизаторі Р 12.

Операція ТП 7.1. Дозування стабілізаторів

Концентрат ферменту (1288 л з активністю 4900 од/мл) подається зі збірника концентрату З 11 у реактор-стандартизатор Р 12 ($V = 8$ м³ з якірною мішалкою $N = 5,5$ кВт та сорочкою терморегулювання). При інтенсивному перемішуванні при температурі 4–10 °С послідовно вносять компоненти-стабілізатори з відповідних збірників:

- сорбіт у вигляді 70 %-го водного розчину зі збірника З 13 – 2100 л (масою 2835 кг). Сорбіт виконує функцію стабілізатора ферменту (захищає його від денатурації при зберіганні) та водоутримуючого агента;
- натрію хлорид у вигляді 25 %-го розчину зі збірника З 14 – 350 л (масою 416,5 кг). NaCl стабілізує конформацію α -амілази та підвищує її термостійкість, що особливо важливо для високотемпературної амілази;
- натрію бензоат у вигляді 20 %-го розчину зі збірника З 15 – 105 л (масою 115,5 кг). Бензоат натрію виконує функцію консерванту, запобігаючи розвитку мікроорганізмів при зберіганні препарату.

Операція ТП 7.2. Стандартизація активності

										Арк.
										64
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	162.01.03.00 000 ПЗ					

Після дозування всіх стабілізаторів додають воду питну зі збірника З 1 (3169 л) для остаточного коригування об'єму до 7012 л. Перемішування у реакторі Р 12 продовжують протягом 30 хв для повного розчинення та гомогенізації. По завершенні стандартизації відбирають пробу та визначають у ній активність α -амілази (**К 7.2.1**), яка має становити 900 ± 20 од/мл; рН препарату – 6,0–6,5 (**К 7.2.2**); масову частку сорбіту 18–22 % методом ВЕРХ (**К 7.2.3**). У разі відхилення активності від норми коригують додаванням води зі збірника З 1 (при перевищенні) або концентрату зі збірника З 11 (при зниженні). Готовий стандартизований препарат з реактора Р 12 подається на фінальну стадію – фасування на лінії ГФ 16.

Стадія ПМВ 8. Фасування, маркування та відвантаження

Стандартизований препарат фасується у поліетиленові каністри місткістю 1, 5 та 20 л у пропорції, що відповідає замовленням споживачів (умовно прийнято: 70 % обсягу – каністри 20 л; 20 % – каністри 5 л; 10 % – каністри 1 л). На одну виробничу серію припадає 243 каністри по 20 л, 278 каністр по 5 л та 694 каністри по 1 л (загалом 1215 одиниць тари). Стадія складається з трьох послідовних операцій.

Операція ПМВ 8.1. Фасування у каністри

Фасування проводиться на автоматичній лінії ГФ 16 продуктивністю 600 каністр/год з ваговим дозатором, точність дозування – $\pm 0,5$ % від номінального об'єму (**К 8.1.1**). Перед фасуванням порожні каністри проходять контроль на цілісність, герметичність та чистоту. Заповнені каністри автоматично закупорюються пластиковими гвинтовими кришками з контрольним кільцем, що гарантує захист від несанкціонованого відкриття.

Операція ПМВ 8.2. Маркування

Маркування здійснюється самоклеючими етикетками на лінії ГФ 16. На кожній етикетці наводяться: торгова назва препарату («Альфалад БТ»); характеристика – α -амілаза бактеріальна високотемпературна; ферментативна активність – 900 од/мл; номер серії; дата виробництва; термін придатності (12 місяців з дати виробництва при зберіганні за температури 4–10 °С); най-

					162.01.03.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		65

менування і адреса виробника (ПрАТ «ENZIM Biotech»); позначення ТУ; маса нетто та область застосування. Відповідність маркування контролюється сканером штрих-коду на кожній каністрі (К 8.2.1).

Операція ПМВ 8.3. Пакування і відвантаження

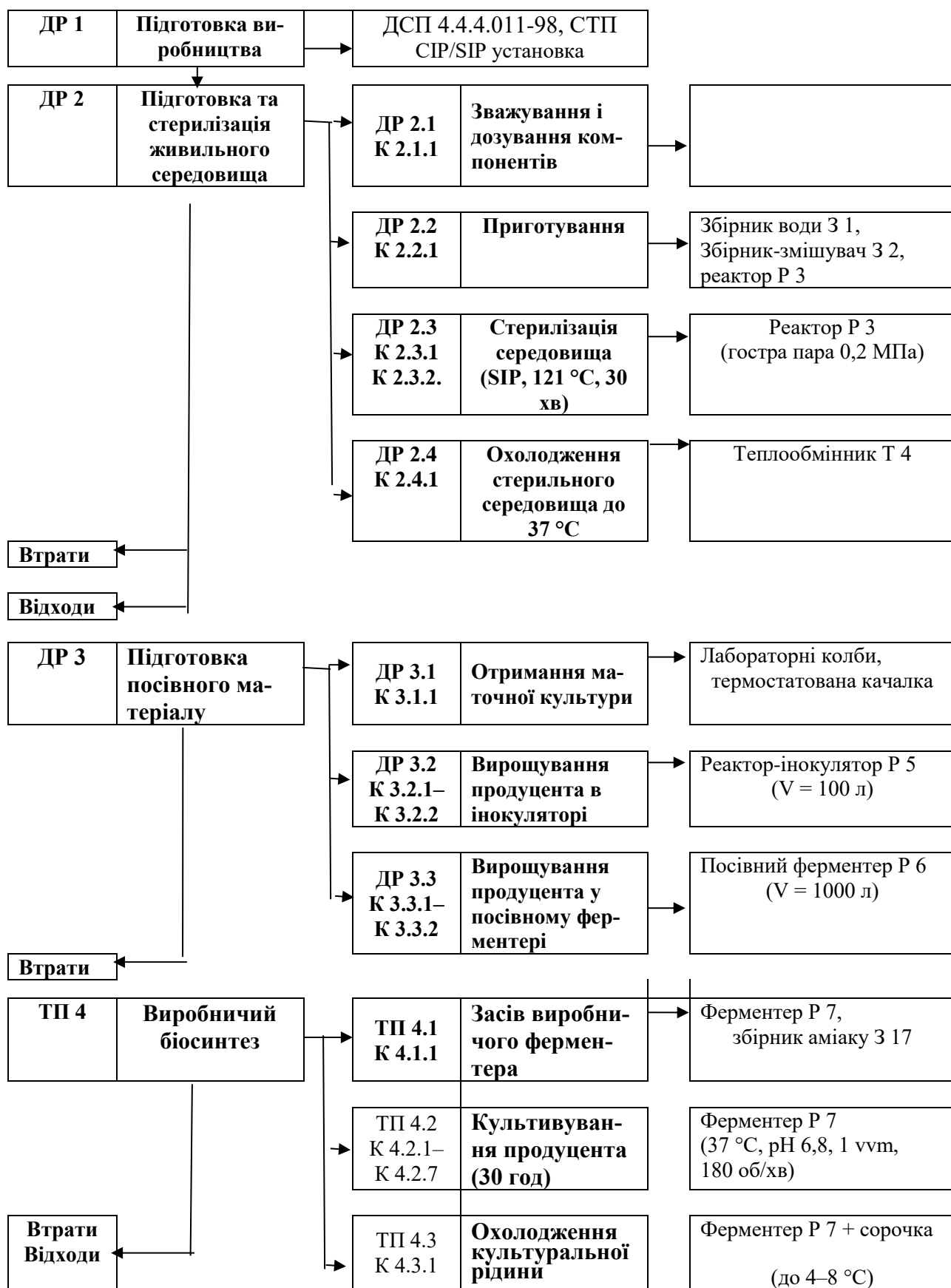
Промарковані каністри групуються в транспортні пакети на стандартних європіддонах (по 32 каністри 20-літрових на піддон), пакуються термоусадковою плівкою та передаються на склад готової продукції. Зберігання здійснюється у складському приміщенні з контрольованими умовами (4–10 °С, відносна вологість 50–70 %, відсутність прямого сонячного освітлення). Готова продукція не може бути відвантажена споживачу до отримання позитивного висновку відділу контролю якості та оформлення паспорта якості (Certificate of Analysis, CoA) на серію.

Загальна тривалість виробничого циклу однієї серії від початку завантаження живильного середовища у ферментер Р 7 до відвантаження готової продукції складає приблизно 60 годин, з яких ~ 30 годин – біосинтез у ферментері Р 7 (стадія ТП 4), решта припадає на стадії підготовки, виділення, стандартизації та фасування. За рік (8000 робочих годин) підприємство може випускати близько 130 серій, що відповідає річній продуктивності близько 900 тис. л товарного препарату «Альфалад БТ».

					162.01.03.00 000 ПЗ	Арк.
						66
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

3.4 Схеми виробництва (зі специфікацією обладнання)

Технологічну схему виробництва препарату «Альфалад БТ» представлено на рисунку 3.2.



Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата
------	------	----------	--------	------

162.01.03.00 000 ПЗ

Арк.

67

Продовження рис.3.2.

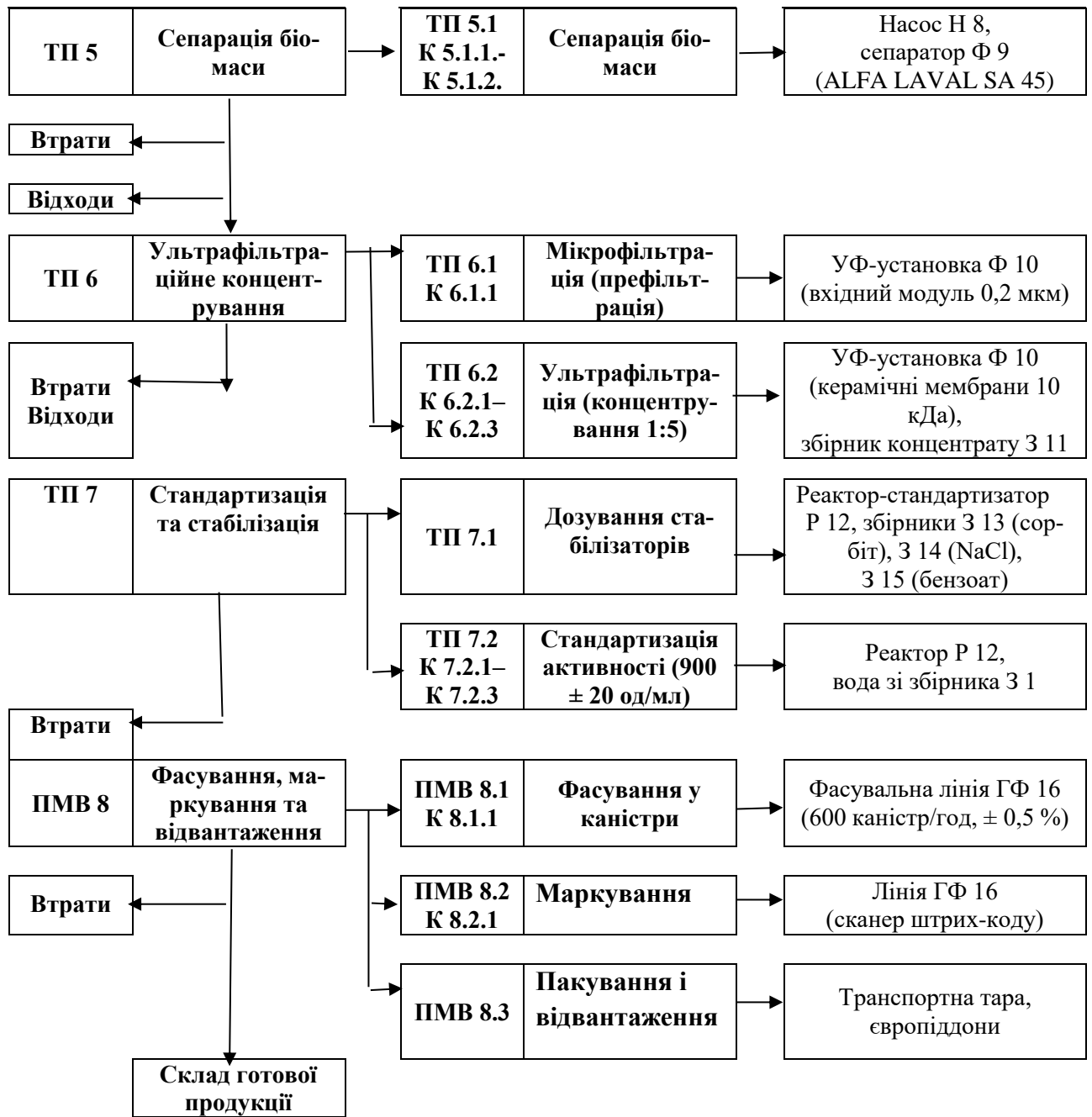


Рис. 3.2 Технологічна схема виробництва препарату «Альфалад БТ».

Специфікація обладнання, яке використовується у виробництва сиру кисломолочного з додаванням рослинних екстрактів «Гармонія Трав Данон» представлена у табл. 3.4.

Специфікація основного технологічного обладнання, що використовується на апаратурній схемі (рисунок 3.2), наведена у таблиці 3.4. Позначення обладнання прийнято відповідно до методичних рекомендацій кафедри біотехнології НФаУ: **З** – збірники, мірники; **Р** – реактори, автоклави, ферментери; **Т** – теплообмінники; **Ф** – фільтрувальна та розділова апаратура; **Н** – насоси; **ГФ** – обладнання для фасування та пакування; **КП** – контрольно-вимірювальні прилади (включаючи ваги). Загальноцехові установки (станції стиснутого повітря, парогенерації, водопідготовки, холодопостачання) на апаратурній схемі не наводяться відповідно до пункту 3.4 методичних рекомендацій.

Таблиця 3.4

Специфікація обладнання, яке використовується у виробництві препарату «Альфалад БТ»

Поз.	Найменування	Кільк.	Маса, кг	Примітка (матеріал)
1	2	3	4	5
З 1	Збірник води питної. $V = 10 \text{ м}^3$. Циліндричний вертикальний з еліптичними днищами	1	650	Сталь 12Х18Н10Т
КП 1	Ваги промислові підлогові електронні. Межі зважування: 50–1500 кг, точність $\pm 0,1 \%$. Для зважування сухих компонентів живильного середовища	1	180	Платформа – нерж. сталь, індикатор IP65
Р 3	Реактор для приготування та стерилізації живильного середовища. $V = 10 \text{ м}^3$, циліндричний з еліптичними днищами, лопатева мішалка $N = 11 \text{ кВт}$, сорочка терморегулювання, SIP за $121 \text{ }^\circ\text{C}$, тиск $0,2 \text{ МПа}$	1	2 850	Сталь 12Х18Н10Т
Т 4	Теплообмінник пластинчастий для	1	210	Сталь

					162.01.03.00 000 ПЗ	Арк.
						70
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Поз.	Найменування	Кільк.	Маса, кг	Примітка (матеріал)
1	2	3	4	5
	охолодження стерильного живильного середовища. Поверхня теплообміну $F = 12 \text{ м}^2$, охолодження $121 \rightarrow 37 \text{ }^\circ\text{C}$			12X18H10T
P 5	Реактор-інокулятор. $V = 100 \text{ л}$, механічна мішалка $N = 2 \text{ кВт}$, сорочка, SIP, барботер	1	120	Сталь 12X18H10T
P 6	Посівний ферментер. $V = 1000 \text{ л}$, турбінна мішалка Раштона $N = 7,5 \text{ кВт}$, сорочка, SIP, барботер	1	520	Сталь 12X18H10T
P 7	Ферментер виробничий (об'єкт переоснащення). $V = 10 \text{ м}^3$ ($V_{\text{роб}} = 7 \text{ м}^3$), $D = 1800 \text{ мм}$, $H = 4230 \text{ мм}$, 3 турбіни Раштона $\varnothing 600 \text{ мм}$, привід $N = 37 \text{ кВт}$, $n = 180 \text{ об/хв}$, сорочка $F = 21,9 \text{ м}^2$, барботер $\varnothing 1260 \text{ мм}$ (660 отв.), SIP/CIP, 24 штуцери	1	3 200	Сталь 12X18H10T, $Ra \leq 0,4 \text{ мкм}$
H 8	Насос перистальтичний для подачі культуральної рідини на сепарацію. $Q = 5\text{--}7 \text{ м}^3/\text{год}$, $\Delta P = 0,2 \text{ МПа}$	1	32	Корпус сталь, шланг – силікон
Ф 9	Сепаратор дисковий саморозвантажувальний. Тип Alfa Laval SA 45, $n = 6000 \text{ об/хв}$, $Q = 5\text{--}7 \text{ м}^3/\text{год}$, $t = 4\text{--}10 \text{ }^\circ\text{C}$	1	1 100	Сталь 12X18H10T
Ф 10	Установка ультрафільтраційна тангенціальна з вбудованим префільтром $0,2 \text{ мкм}$ та керамічними УФ-мембранами. Поверхня $F = 25 \text{ м}^2$, відсікання 10 кДа , ТМР $0,2\text{--}0,4 \text{ МПа}$, коеф. концентрування $1:5$	1	850	Корпус – сталь 12X18H10T, мембрани – $\text{ZrO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$, префільтр – поліпропілен
З 11	Збірник концентрату ферменту. $V = 2 \text{ м}^3$, циліндричний з еліптичними днища-	1	240	Сталь 12X18H10T

Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата

162.01.03.00 000 ПЗ

Арк.

71

Поз.	Найменування	Кільк.	Маса, кг	Примітка (матеріал)
1	2	3	4	5
	ми, сорочка $t = 4-10\text{ }^{\circ}\text{C}$			
Р 12	Реактор-стандартизатор препарату. $V = 8\text{ м}^3$, якірна мішалка $N = 5,5\text{ кВт}$, сорочка $t = 4-10\text{ }^{\circ}\text{C}$, $n = 30\text{ об/хв}$	1	2 200	Сталь 12Х18Н10Т
З 13	Збірник сорбіту 70 %-го розчину. $V = 3\text{ м}^3$, з обігрівом $t = 35-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ для запобігання кристалізації	1	260	Сталь 12Х18Н10Т
З 14	Збірник натрію хлориду 25 %-го розчину. $V = 1\text{ м}^3$	1	150	Сталь 12Х18Н10Т
З 15	Збірник натрію бензоату 20 %-го розчину. $V = 1\text{ м}^3$	1	150	Сталь 12Х18Н10Т
ГФ 16	Лінія фасування рідких ферментних препаратів у каністри 1, 5 та 20 л. $Q = 600\text{ каністр/год}$, ваговий дозатор з точністю $\pm 0,5\%$, автомат закупорювання та маркування	1	1 800	Контактні поверхні – нерж. сталь 12Х18Н10Т
З 17	Збірник 25 %-го водного аміаку. $V = 1\text{ м}^3$, з насосом-дозатором для подачі в Р 7 (рН-регуляція)	1	180	Сталь 12Х18Н10Т, ущільнення хіміостійке

Загальна кількість одиниць основного технологічного обладнання – 16 одиниць (позиції З 1, КП 1, Р 3 – Т 4, Р 5 – Р 7, Н 8, Ф 9 – Ф 10, З 11, Р 12, З 13 – З 15, ГФ 16, З 17). Загальноцехові установки (компресорна станція, парогенератор, система холодопостачання) у специфікацію не входять – вони використовуються кількома виробничими лініями підприємства одночасно. Маса обладнання наведено за каталоговими даними виробників із округленням до 10 кг для апаратів масою понад 100 кг.

На апаратурній схемі (рисунок 3.2) додатково показано: контрольні-вимірювальні прилади (КП) – манометри, термометри, ротаметри, рН- та ДО-датчики, ваги; засоби автоматичного управління (РП) – частотні перет-

									Арк.
									72
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	162.01.03.00 000 ПЗ				

ворювачі приводів, регулятори температури, тиску, рівня; запірно-регулюючу арматуру (Вз – вентиля запірні, Вр – вентиля регулюючі) за ГОСТ 21.404. Усі точки автоматичного контролю інтегровано до операторської системи SCADA.

3.5 Контроль виробництва

Контроль виробництва ферментного препарату «Альфалад БТ» здійснюється з метою забезпечення стабільної якості готового продукту, що відповідає вимогам нормативно-технічної документації, а також з метою гарантування безпеки та ефективності його застосування. Система контролю якості організована на ПрАТ «ENZIM Biotech» відповідно до вимог Настанови СТ-Н МОЗУ 42-4.0:2020 «Лікарські засоби. Належна виробнича практика» (GMP) та принципів управління безпекою згідно з ДСТУ ISO 22000:2019 «Системи керування безпечністю харчових продуктів» (HACCP) у частині, що стосується ферментних препаратів промислового та харчового призначення.

Згідно з принципами GMP, контроль якості охоплює всі етапи життєвого циклу продукту: відбір проб і проведення випробувань, документування результатів, видачу дозволів на використання сировини та випуск готової продукції. Контроль якості не обмежується лабораторними дослідженнями, а є частиною системи прийняття рішень щодо якості продукції. На ПрАТ «ENZIM Biotech» функціонує окремий відділ контролю якості (ВКЯ), який здійснює моніторинг усіх критичних параметрів виробництва.

Відповідно до загальноприйнятої практики у фармацевтичній та біотехнологічній галузях, контроль виробництва ферментного препарату включає три основні види: вхідний контроль (сировина, матеріали), постадійний (міжопераційний) контроль (напівпродукти на кожній стадії технологічного процесу) та вихідний контроль (готовий продукт).

3.5.1 Вхідний контроль сировини та матеріалів

Вхідний контроль забезпечує перевірку відповідності сировини, допоміжних матеріалів та пакувальних матеріалів вимогам нормативно-технічної

					162.01.03.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		73

документації. Кожна партія сировини, що надходить на підприємство, проходить перевірку за показниками, передбаченими у таблиці 2.2 (Характеристика сировини, матеріалів і напівпродуктів). Особливу увагу при вхідному контролі приділяють перевірці:

компонентам поживного середовища (крохмаль кукурудзяний за ДСТУ 3976:2007 – показники вологості, чистоти, вмісту крохмалю; кукурудзяний екстракт за ТУ – суха речовина, аміний азот, рН; мінеральні солі за ГОСТ – масова частка основної речовини, нерозчинні домішки); водній сировині (вода питна за ДСТУ 7525:2014 – органолептичні, мікробіологічні та хімічні показники); пакувальним матеріалам (каністри ПЕ – герметичність, відповідність геометричних розмірів); штаму-продуценту *Bacillus licheniformis* з виробничої колекції – типовість морфології, біохімічні характеристики, активність α -амілази, відсутність сторонньої мікрофлори.

Результати вхідного контролю оформляють у вигляді протоколів аналізу та реєструють у журналі вхідного контролю. Сировина, яка не відповідає вимогам НТД, маркується як «карантинна» та повертається постачальнику або підлягає утилізації.

3.5.2 Постадійний (міжопераційний) контроль виробництва

Постадійний контроль здійснюється на всіх стадіях технологічного процесу з метою своєчасного виявлення відхилень від встановлених параметрів та запобігання випуску неякісного напівпродукту на наступну стадію. У результаті аналізу критичних точок виробництва ферментного препарату «Альфалад БТ» визначено критичні контрольні точки (ККТ), на яких здійснюється моніторинг ключових параметрів процесу. Контрольні точки позначаються за схемою **К Х.У.З**, де Х – номер стадії технологічного процесу, У – номер операції в межах стадії, З – порядковий номер контрольної точки в межах операції. Параметри постадійного контролю, методи їх визначення, періодичність і норми прийнятності наведено в табл. 3.5.

					162.01.03.00 000 ПЗ	Арк.
						74
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

**Контроль критичних стадій і проміжної продукції виробництва
препарату «Альфалад БТ»**

№ ККТ	Критична стадія, операція	Об'єкт контролю, параметр	Метод контролю	Періодичність	Критерій прийнятності
1	2	3	4	5	6
К 1.1.1	ДР 1.1. Підготовка приміщень	Мікробне обсіменіння повітря виробничих приміщень	Седиментаційний (метод Коха) на МПА	Один раз на тиждень	Не більше 100 КУО/м ³ (клас D за GMP)
К 1.2.1	ДР 1.2. Підготовка обладнання (CIP/SIP)	Стерильність обладнання після SIP	Мікробіологічний (змиви з внутрішніх поверхонь)	Перед кожною серією	Відсутність росту мікроорганізмів за 48 год
К 1.3.1	ДР 1.3. Підготовка персоналу	Чистота рук та одягу персоналу	Змиви, посів на МПА	Щоденно перед зміною	Не більше 10 КУО/долоня
К 2.1.1	ДР 2.1. Зважування компонентів (КП 1)	Маса компонентів сировини	Гравіметричний на вагах КП 1	Кожна партія	± 0,5 % від рецептурної кількості
К 2.2.1	ДР 2.2. Приготування середовища (Р 3)	Вміст сухих речовин у середовищі	Рефрактометричний за ГОСТ 8756.2	Кожна серія, перед стерилізацією	CP = 5,5 ± 0,5 %
К 2.3.1	ДР 2.3. Стерилізація середовища (Р 3)	Температура та тривалість стерилізації	Термоелектричний (Pt-100), запис у SCADA	Безперервно під час SIP	121 ± 1 °C, не менше 30 хв
К 2.3.2	ДР 2.3. Стерилізація середовища (Р 3)	Стерильність середовища після SIP	Мікробіологічний (посів на МПА, ССА, СА)	Кожна серія, після охолодження	Відсутність росту за 48 год
К 2.4.1	ДР 2.4. Охолодження	Температура середовища на виході	Pt-100 на виході Т 4	Безперервно	37 ± 1 °C

										Арк.
										75
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	162.01.03.00 000 ПЗ					

№ ККТ	Критична стадія, операція	Об'єкт контролю, параметр	Метод контролю	Періодичність	Критерій прийнятності
1	2	3	4	5	6
	середовища (Т 4)				
К 3.1.1	ДР 3.1. Маточна культура (колби)	Морфологія культури В. licheniformis	Мікроскопічний (фарбування за Грамом)	Кожна партія	Гр(+) палички 1,5–6,0 мкм, відсутність контамінантів
К 3.2.1	ДР 3.2. Вирощування в інокуляторі (Р 5)	Чистота культури	Мікроскопія + посів на МПА	Перед перенесенням	Відсутність сторонньої мікрофлори
К 3.2.2	ДР 3.2. Вирощування в інокуляторі (Р 5)	Концентрація біомаси (АСБ)	Гравіметричний (до постійної маси)	Перед перенесенням	Не менше 1,5 г/л АСБ
К 3.3.1	ДР 3.3. Вирощування у посівному ферментері (Р 6)	Чистота культури	Мікроскопія + посів на МПА	Перед перенесенням	Відсутність сторонньої мікрофлори
К 3.3.2	ДР 3.3. Вирощування у посівному ферментері (Р 6)	Концентрація біомаси (АСБ)	Гравіметричний	Перед перенесенням	Не менше 1,5 г/л АСБ
К 4.1.1	ТП 4.1. Засів ферментера (Р 7)	Початкова концентрація біомаси	Гравіметричний (відбір проби)	Після засіву	0,15 ± 0,02 г/л АСБ
К 4.2.1	ТП 4.2. Культивування продуцента (Р 7)	Температура культивування	Pt-100, безперервний моніторинг (SCADA)	Безперервно, запис кожні 5 хв	37 ± 0,5 °С
К 4.2.2	ТП 4.2.	pH культура-	Потенціометрич-	Безперерв-	6,8 ± 0,2

Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата
------	------	----------	--------	------

162.01.03.00 000 ПЗ

Арк.

76

№ ККТ	Критична стадія, операція	Об'єкт контролю, параметр	Метод контролю	Періодичність	Критерій прийнятності
1	2	3	4	5	6
	Культивування продуцента (Р 7)	льної рідини	ний (рН-електрод)	но	
К 4.2.3	ТП 4.2. Культивування продуцента (Р 7)	Розчинений кисень (DO)	Поляграфічний датчик	Безперервно	Не менше 30 % від насичення
К 4.2.4	ТП 4.2. Культивування продуцента (Р 7)	Витрата стерильного повітря	Витратомір (ротаметр)	Безперервно	7,0 ± 0,5 м ³ /хв (1 vvm)
К 4.2.5	ТП 4.2. Культивування продуцента (Р 7)	Активність α-амілази у КР	Фотометричний за DIN 10523 (йод-крохмальний)	Кожні 4 год від початку	≥ 1000 од/мл наприкінці
К 4.2.6	ТП 4.2. Культивування продуцента (Р 7)	Концентрація редуруючих цукрів	DNS-метод (3,5-динітросаліцилова кислота)	Кожні 4 год	Спадає від 40 г/л до 5–8 г/л
К 4.2.7	ТП 4.2. Культивування продуцента (Р 7)	Мікробіологічна чистота	Посів на МПА + мікроскопія	Кожні 8 год	Відсутність сторонньої мікрофлори
К 4.3.1	ТП 4.3. Охолодження КР (Р 7)	Кінцева температура КР	Pt-100	Безперервно	4–8 °С
К 5.1.1	ТП 5.1. Сепарація біомаси (Ф 9)	Активність ферменту у фільтраті	Фотометричний (DIN 10523)	Кожна серія	≥ 950 од/мл
К 5.1.2	ТП 5.1. Сепарація біомаси (Ф 9)	Прозорість фільтрату	Спектрофотометричний (λ = 600 нм)	Кожна серія	A ₆₀₀ ≤ 0,15

Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата

162.01.03.00 000 ПЗ

Арк.

77

№ ККТ	Критична стадія, операція	Об'єкт контролю, параметр	Метод контролю	Періодичність	Критерій прийнятності
1	2	3	4	5	6
	9)				
К 6.1.1	ТП 6.1. Мікрофільтрація (Ф 10)	Прозорість після МФ	Спектрофотометричний ($\lambda = 600 \text{ нм}$)	Кожна серія	$A_{600} \leq 0,05$
К 6.2.1	ТП 6.2. Ультрафільтрація (Ф 10)	Трансмембранний тиск (TMP)	Манометр	Безперервно	0,2 – 0,4 МПа
К 6.2.2	ТП 6.2. Ультрафільтрація (Ф 10)	Активність концентрату (З 11)	Фотометричний (DIN 10523)	Кожна серія, після УФ	4900 ± 100 од/мл
К 6.2.3	ТП 6.2. Ультрафільтрація (Ф 10)	Активність у пермеаті (втрати)	Фотометричний	Кожна серія	≤ 50 од/мл (втрати $< 2\%$)
К 7.2.1	ТП 7.2. Стандартизація активності (Р 12)	Активність товарного препарату	Фотометричний за DIN 10523	Кожна серія	900 ± 20 од/мл
К 7.2.2	ТП 7.2. Стандартизація активності (Р 12)	pH препарату	Потенціометричний	Кожна серія	6,0 – 6,5
К 7.2.3	ТП 7.2. Стандартизація активності (Р 12)	Масова частка сорбіту	ВЕРХ (рефрактометричний детектор)	Кожна серія	18 – 22 % мас.
К 8.1.1	ПМВ 8.1. Фасування у каністри (ГФ 16)	Точність дозування у каністри	Ваговий (контрольне зважування)	Кожна каністра (автомат.)	$\pm 0,5\%$ від номінального об'єму
К 8.2.1	ПМВ 8.2. Маркування (ГФ 16)	Відповідність маркування	Візуальний + сканер штрих-коду	Кожна каністра	Серія, дата, термін, ТУ – присутні і

Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата

162.01.03.00 000 ПЗ

Арк.

78

№ ККТ	Критична стадія, операція	Об'єкт контролю, параметр	Метод контролю	Періодичність	Критерій прийнятності
1	2	3	4	5	6
					правильні

3.5.3 Вихідний контроль готового продукту

Вихідний контроль готового препарату «Альфалад БТ» здійснюється відділом контролю якості за повним переліком показників, наведених у нормативно-технічній документації виробника (ТУ У 20.5-12345678-001:2025). Кожна вироблена серія препарату не може бути випущена у обіг до отримання позитивного висновку відділу контролю якості. Показники якості готового продукту наведено в табл. 3.6.

Таблиця 3.6

Показники якості готового препарату «Альфалад БТ»

№	Показник якості	Метод контролю	Норма за ТУ У 20.5-12345678-001:2025
1	Зовнішній вигляд	Візуальний	Прозора або злегка опалесцентна рідина без механічних домішок
2	Колір	Візуальний (порівняння зі шкалою)	Світло-коричневий до коричневого
3	Запах	Органолептичний	Властивий, без сторонніх запахів
4	Активність α -амілази	Фотометричний за DIN 10523 (йод-крохмальний метод)	Не менше 900 од/мл, не більше 920 од/мл
5	pH	Потенціометричний за ДСТУ 4115	6,0 – 6,5
6	Густина при 20 °C	Пікнометричний (ГОСТ 18995.1)	1,10 – 1,15 г/см ³
7	Масова частка сорбіту	ВЕРХ з рефрактометричним детектором	18 – 22 %
8	Масова частка натрію	Аргентометричне	1,5 – 2,0 %

									Арк.
									79
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	162.01.03.00 000 ПЗ				

№	Показник якості	Метод контролю	Норма за ТУ У 20.5-12345678-001:2025
	хлориду	титрування за Мормом	
9	Масова частка натрію бензоату	ВЕРХ з УФ-детектором ($\lambda = 230$ нм)	0,18 – 0,22 %
10	Мікробіологічна чистота: загальне число аеробних МО	Посів на МПА (37 °С, 48 год)	Не більше 100 КУО/мл
11	Мікробіологічна чистота: дріжджі та плісняви	Посів на сусло-агар (25 °С, 5 діб)	Не більше 10 КУО/мл
12	Патогенні мікроорганізми (E. coli, Salmonella, S. aureus)	Селективні посіви за ДСТУ ISO 6579, ISO 16649	Відсутність у 25 мл препарату
13	Термостабільність (втрата активності за 60 хв при 80 °С)	Інкубація + фотометрія	Не більше 10 %
14	Термін придатності	Прискорені та довгострокові випробування стабільності	12 місяців при 4 – 10 °С

Кожна серія препарату «Альфалад БТ», що пройшла вихідний контроль, супроводжується паспортом якості (Certificate of Analysis, CoA), в якому зазначаються номер серії, дата виробництва, термін придатності, фактичні значення показників якості та підпис уповноваженої особи відділу контролю якості. Без позитивного CoA продукція не допускається до відвантаження споживачу.

3.5.4 Основні методи аналізу, що застосовуються у контролі виробництва

Визначення ферментативної активності α -амілази. Основний метод контролю якості продукту – фотометричний йод-крохмальний метод, виконуваний за DIN 10523. Метод базується на здатності α -амілази гідролізувати розчинний крохмаль до декстринів та цукрів, що супроводжується зниженням інтенсивності забарвлення йод-крохмального комплексу. Одна одиниця

									Арк.
									80
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	162.01.03.00 000 ПЗ				

активності (1 од) визначається як кількість ферменту, яка за 1 хв за стандартних умов (рН 6,0, температура 60 °С) гідролізує 1 мг розчинного крохмалю. Випробування проводять у фотоелектроколориметрі при довжині хвилі 620 нм.

Визначення концентрації біомаси (АСБ). Гравіметричний метод: відбирають 10 мл культуральної рідини, центрифугують при 6000 об/хв протягом 10 хв, осад двічі промивають дистильованою водою, висушують до постійної маси при 105 °С. Результат розраховують у г/л.

Визначення редукуючих цукрів. DNS-метод за реакцією з 3,5-динітросаліциловою кислотою у лужному середовищі при нагріванні з утворенням забарвленої сполуки. Інтенсивність забарвлення вимірюють фотометрично при 540 нм та обчислюють концентрацію за калібрувальною кривою (стандарт – глюкоза).

Контроль рН. Здійснюється потенціометрично з використанням скляних електродів, налаштованих за двоточною калібрувкою (буфери рН 4,01 та 6,86). У ферментері встановлений вбудований стерилізований електрод, у лабораторії – стандартний лабораторний рН-метр.

Контроль розчиненого кисню (DO). Поляграфічний метод із застосуванням датчиків Кларка. Датчик калібрують перед серією у двох точках: 0 % (у розчині натрію сульфіту) та 100 % (повітряне насичення стерильного середовища). Сигнал датчика інтегрується в SCADA-систему.

Мікробіологічний контроль. Включає: мікроскопічне дослідження препаратів культури, забарвлених за Грамом (підтвердження морфології *Bacillus licheniformis* – грампозитивні палички 1,5–6,0 × 0,6–0,8 мкм); посів на м'ясо-пептонний агар (МПА), сусло-агар (СА), Сабуро (ССА) для виявлення сторонньої мікрофлори; селективні посіви на МакКонкі (*E. coli*, ентеробактерії), Бейрд-Паркер (*S. aureus*), вісмут-сульфітний (*Salmonella*) для виявлення патогенних мікроорганізмів у готовому продукті.

Високоєфективна рідинна хроматографія (ВЕРХ). Застосовується для кількісного визначення сорбіту (колонка з аміновим сорбентом, рефрак-

					162.01.03.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		81

тометричний детектор) та натрію бензоату (колонка C18, УФ-детектор при 230 нм). Як стандарти використовують фармакопейні зразки відповідних речовин.

Усі прилади та засоби вимірювальної техніки, що використовуються у контролі виробництва, проходять метрологічну повірку у встановлені терміни згідно з програмою метрологічного забезпечення підприємства, а методики виконання вимірювань – атестацію в установленому порядку. Ведення усієї документації відділу контролю якості (СОП, протоколи аналізу, журнали, СоА) здійснюється відповідно до вимог GMP та внутрішньої системи якості ПрАТ «ENZIM Biotech».

3.6 Екологічні аспекти виробництва

Екологічний моніторинг та раціональне поводження з відходами біотехнологічних і фармацевтичних виробництв є важливими складовими забезпечення сталого та екологічно прийняттого виробничого процесу. Останніми десятиліттями міжнародна спільнота та представники біотехнологічної галузі все частіше наголошують на проблемі своєчасної утилізації відходів виробництв, недопущенні їх потрапляння у довкілля. Зокрема, Регламент Європейського Союзу (EU) 2022/1307 містить перелік субстанцій біологічного та фармацевтичного походження, які підлягають контролю у стічних водах та водоймах, і визначає методи їх моніторингу. Україна як країна-кандидат у члени ЄС поетапно гармонізує національне законодавство у сфері охорони довкілля з європейськими стандартами.

Організація системи екологічного управління на ПрАТ «ENZIM Biotech» здійснюється відповідно до вимог ДСТУ ISO 14001:2015 «Системи екологічного управління. Вимоги та настанови щодо застосування» та Закону України «Про охорону навколишнього природного середовища» від 25 червня 1991 року № 1264-ХІІ (зі змінами). Підприємство має дозвіл на спеціальне водокористування, дозвіл на викиди забруднюючих речовин в атмосферне повітря стаціонарними джерелами та реєструє утворення і поводження з від-

					162.01.03.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		82

ходами відповідно до Закону України «Про управління відходами» від 20 червня 2022 року № 2320-ІХ.

За результатами проведеного матеріального балансу виробництва ферментного препарату «Альфалад БТ» виявлено основні джерела утворення відходів, технологічних викидів та стічних вод. Усі відходи виробництва за фізичним станом класифіковано на три групи: тверді відходи, рідкі відходи (стічні води) та газоповітряні викиди. Перелік і кількісну характеристику відходів за виробничу серію наведено у табл. 3.7.

Таблиця 3.7

Перелік відходів виробництва препарату «Альфалад БТ» за одну виробничу серію

№	Вид відходу	Склад / характеристика	Кількість за серію	Джерело утворення (стадія)	Спосіб поводження
1	Біомаса продуцента (тв.)	Інактивовані клітини <i>Bacillus licheniformis</i> , вода (~80 %), залишки поживного середовища	360 кг	ТП 5. Сепарація біомаси (Ф 9)	Термічне знешкодження або компостування після інактивації
2	Пермеат ультрафільтрації (рід.)	Вода, низькомолекулярні розчинні речовини (солі, залишки субстратів, пептиди < 10 кДа)	5152 л	ТП 6. Ультрафільтраційне концентрування (Ф 10)	Біологічна очистка на локальних або комунальних очисних спорудах
3	Стічні води СІР/СІР	Розчини NaOH 1,5–2 %, HNO ₃ 1 %, миючі засоби, органічні залишки	≈ 4 м ³	ДР 1. Санітарна підготовка; усі стадії ТП – СІР/СІР	Нейтралізація + біологічна очистка; розділення кислих та лужних

№	Вид відходу	Склад / характеристика	Кількість за серію	Джерело утворення (стадія)	Спосіб поводження
					потоків
4	Газоповітряні викиди	CO ₂ (~ 80 %), H ₂ O (~ 17 %), NH ₃ (~ 3 %), аерозолі	952 кг	ТП 4. Виробничий біосинтез (Р 7)	НЕРА-фільтрація, каплевловлювач, адсорбційне очищення
5	Водяна пара (випаровування)	Чиста водяна пара, залишкові аерозолі	160 кг	ДР 2. Стерилізація живильного середовища (Р 3); ТП 4. Виробничий біосинтез (Р 7)	Рекуперація тепла у теплообміннику Т 4; конденсат у систему
6	Технологічні втрати (рідкі)	Залишки на стінках обладнання, проміжні продукти, проби	≈ 640 кг	ТП 4–ТП 7 (всі основні стадії)	Відведення у виробничу каналізацію; об'єднання зі стоками СІР/СІР
7	Відходи упаковки	Картон, поліетиленова плівка, фрагменти каністр (брак)	≈ 5–10 кг (сухі)	ПМВ 8. Фасування, маркування та відвантаження (ГФ 16)	Роздільний збір; передача спеціалізованим переробникам

Тверді відходи виробництва

Основним твердим відходом виробництва ферментного препарату «Альфалад БТ» є біомаса штаму-продуцента *Bacillus licheniformis*, що відділяється на сепараторі Ф 9 (стадія ТП 5). За результатами матеріального балансу її кількість становить близько 360 кг за серію (вологість приблизно 80 %, маса абсолютно сухої біомаси – близько 72 кг). Біомаса представляє собою інактивовані термообробкою бактеріальні клітини у вигляді пасто-подібної маси та містить білки, нуклеїнові кислоти, ліпіди, залишки поживного середовища та мінеральні солі. *Bacillus licheniformis* має статус GRAS

									Арк.
									84
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	162.01.03.00 000 ПЗ				

(Generally Recognized As Safe) за класифікацією FDA і не є патогенним мікроорганізмом для людини та тварин, проте до утилізації біомаси висуваються вимоги біологічної безпеки відповідно до ДСТУ 4287:2004 «Якість ґрунту. Відбирання проб» та галузевих санітарних правил.

Рекомендовані способи поводження з біомасою:

- термічне знешкодження у спеціалізованих установках за температури не нижче 850 °С – повне знищення біологічної активності, утворення золи (~ 5 % від маси сухої речовини), що може використовуватися як добриво або в будівельних матеріалах;
- компостування з рослинними рештками після попередньої інактивації автоклавуванням (121 °С, 30 хв) – отримання якісного органічного добрива з високим вмістом азоту та фосфору, придатного для використання у сільсько-му господарстві;
- використання як кормової добавки для тварин після гідролізу та сушіння – біомаса є цінним джерелом мікробного білка (до 50 % сухої речовини) та амінокислот; цей напрямок потребує отримання додаткового дозволу від ветеринарної служби;
- анаеробне зброджування у біогазових установках – отримання біогазу (метан + CO₂) як альтернативного джерела енергії та органічного добрива (сферментована маса).

Перевага надається термічному знешкодженню у муніципальних інсинераторах через відсутність на ПрАТ «ENZIM Biotech» власних потужностей для біогазової переробки та неоднозначність регуляторних вимог до використання інактивованої мікробної біомаси як кормової добавки. Передача відходу на знешкодження здійснюється за договором зі спеціалізованими підприємствами, що мають відповідні ліцензії згідно з Законом України «Про управління відходами».

Інші тверді відходи – відходи упаковки (картонні коробки, поліетиленова плівка, фрагменти бракованих каністр) – становлять близько 5–10 кг за серію та підлягають роздільному збору відповідно до Закону України «Про

					162.01.03.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		85

управління відходами» та передаються спеціалізованим підприємствам, що здійснюють переробку відповідного типу відходів (для картону – целюлозно-паперова промисловість; для поліетилену – підприємства з рециклінгу пластику).

Рідкі відходи (стічні води)

Найбільшим за об'ємом рідким відходом виробництва є пермеат ультрафільтраційного концентрування (стадія ТП 6, установка Ф 10) – близько 5152 л за серію. Пермеат містить воду, низькомолекулярні розчинні речовини (амінокислоти, олігопептиди, мінеральні солі, залишки субстратів), що пройшли крізь мембрану з відсіканням 10 кДа. Значення біохімічного споживання кисню (БСК₅) пермеату становить орієнтовно 800–1500 мг О₂/л, хімічного споживання кисню (ХСК) – 1500–2500 мг О₂/л; за цими показниками пермеат класифікується як середньоконцентровані біологічно розкладні стічні води, що добре піддаються очищенню стандартними біологічними методами.

Другою значною групою рідких відходів є стічні води СІР- та SІР-операцій – близько 4 м³ за серію. До їх складу входять:

- лужні розчини NaOH (1,5–2,0 %) – після обробки внутрішніх поверхонь обладнання містять білкові та органічні забруднення;
- кислі розчини HNO₃ (1,0 %) – після кислотної мийки для видалення мінеральних відкладень;
- розчини миючих засобів та промивні води – переважно з нейтральним рН та помірним вмістом органіки;
- стерилізаційні конденсати – фактично гаряча вода з мінімальним забрудненням.

Для зменшення екологічного навантаження на підприємстві передбачено роздільну каналізацію кислих та лужних потоків з подальшою нейтралізацією у нейтралізаційному реакторі (рН доводиться до 6,5–8,5) перед скиданням у промислову каналізацію. Об'єднаний потік пермеату УФ, нейтралізованих СІР/SІР-стоків та технологічних втрат (загалом близько 10

									Арк.
									86
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	162.01.03.00 000 ПЗ				

м³ за серію) спрямовується на локальну станцію біологічного очищення ПрАТ «ENZIM Biotech», де проходить аеробне очищення в аеротенках з активним мулом. Очищена вода відповідає вимогам ДСТУ 4287:2004 та «Правил приймання стічних вод до систем централізованого водовідведення» (наказ Мінрегіонбуду № 316 від 01.12.2017) і скидається у міську каналізацію згідно з договором водовідведення з підприємством-оператором каналізаційної мережі.

Контроль ефективності біологічної очистки здійснюється шляхом моніторингу основних показників: БСК₅, ХСК, вмісту завислих речовин, азоту амонійного, рН, температури. У разі виявлення відхилень очищена вода направляється на повторне очищення або переводиться у режим резервного зберігання у балансовому резервуарі.

Газоповітряні викиди в атмосферу

Основним джерелом газових викидів є відхідне повітря після виробничого ферментера Р 7 – близько 952 кг за серію, що складається з:

- вуглекислого газу CO₂ (~ 80 % від маси викиду, ≈ 760 кг) – продукт аеробного дихання *Bacillus licheniformis* в ході біосинтезу α-амілази;
- водяної пари H₂O (~ 17 %, ≈ 162 кг) – внаслідок випаровування з культуральної рідини при температурі 37 °С та інтенсивній аерації;
- аміаку NH₃ (~ 3 %, ≈ 30 кг) – частина введеного для підтримання рН аміаку, що не була асимільована мікроорганізмами та виведена з відхідним повітрям;
- слідових кількостей летких органічних сполук (леткі продукти метаболізму) та біоаерозолів (часточки мікроорганізмів, краплі культуральної рідини).

Для очищення газоповітряного потоку перед викидом в атмосферу передбачено двоступеневу систему:

- каплевловлювач циклонного типу – видалення механічного унесу культуральної рідини та біоаерозолів (ефективність ≥ 95 %);

					<i>162.01.03.00 000 ПЗ</i>	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		87

- НЕРА-фільтр з ефективністю затримання частинок $0,2 \text{ мкм} \geq 99,95 \%$ (клас Н13 за EN 1822) – повне видалення біологічних аерозолів і запобігання потраплянню життєздатних клітин у довкілля;

- адсорбер з активованим вугіллям – поглинання летких органічних сполук та залишкового аміаку (для подальшої регенерації або заміни сорбенту).

Викиди CO₂ як парникового газу від ферментаційного виробництва за обсягом є невеликими (~ 100 т/рік для річної програми ~ 130 серій) і не підпадають під обов'язкову квотну торгівлю за Законом України «Про засади моніторингу, звітності та верифікації викидів парникових газів» (порогове значення – 10 000 т CO₂-екв./рік для біотехнологічних виробництв). Тим не менш, з метою скорочення вуглецевого сліду підприємство впроваджує енергоефективні технології (рекуперація тепла у теплообміннику Т 4, оптимізація режимів стерилізації, використання частотних перетворювачів на приводах мішалок та насосів).

Заходи з охорони довкілля та раціонального природокористування

З метою мінімізації негативного впливу виробництва ферментного препарату «Альфалад БТ» на довкілля та забезпечення відповідності вимогам ДСТУ ISO 14001:2015 на ПрАТ «ENZIM Biotech» впроваджено комплекс заходів:

- Замкнений цикл водовикористання – частина очищеної води після локальної очисної споруди використовується повторно для технічних потреб (СІР, охолодження, мийка зовнішніх поверхонь), що дозволяє знизити загальне водоспоживання на 20–25 %;

- Рекуперація тепла у пластинчастому теплообміннику Т 4 – стерильне середовище при охолодженні з 121 °С до 37 °С віддає тепло холодній воді, яка надходить на підігрів живильного середовища у наступному циклі. Це знижує енергоспоживання на стадії підготовки середовища (ДР 2) на 30–40 %;

					162.01.03.00 000 ПЗ	Арк.
						88
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

- Використання частотних перетворювачів на приводах мішалок ферментерів та насосів – оптимальне регулювання обертів двигуна залежно від навантаження, економія електроенергії 15–20 %;

- Постійний моніторинг параметрів довкілля – періодичний контроль викидів в атмосферу (раз на квартал), якості стічних вод на виході з очисних споруд (щоденно), стану ґрунту в зоні розташування підприємства (раз на рік);

- Системне навчання персоналу з питань охорони довкілля та поводження з відходами – обов'язковий інструктаж при прийнятті на роботу та періодичне підвищення кваліфікації згідно з вимогами ДСТУ ISO 14001:2015;

- Утилізація біомаси як можливого вторинного ресурсу – у перспективі планується укладання договорів зі спеціалізованими підприємствами для використання інактивованої біомаси як компоненту органічних добрив або кормових добавок, що дозволить замкнути виробничий цикл за принципом «zero waste».

Запропоновані у даній кваліфікаційній роботі технологічні рішення з технічного переоснащення виробництва ферментного препарату «Альфалад БТ» – зокрема використання сучасного ферментера 10 м³ зі ефективним терморегулюванням, високопродуктивного сепаратора ALFA LAVAL SA 45, тангенціальної ультрафільтраційної установки з керамічними мембранами та системи автоматизованого CIP/SIP – забезпечують не лише підвищення продуктивності на 25–30 %, але й суттєво знижують екологічне навантаження порівняно з традиційним обладнанням за рахунок зменшення витрат сировини, енергії та води на одиницю готового продукту.

					162.01.03.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		89

ВИСНОВОК

За результатами виконання кваліфікаційної роботи, присвяченої технічному переоснащенню виробництва ферментного препарату α -амілази бактеріальної високотемпературної «Альфалад БТ» на ПрАТ «ENZIM Biotech» (м. Ладизин, Україна), отримано такі результати та зроблено наступні висновки:

1. Виконано аналітичний огляд науково-технічної літератури та патентний пошук у галузі виробництва α -амілаз промислового призначення. Встановлено, що термостабільні α -амілази бактеріального походження (продуцент *Bacillus licheniformis*) є одними з найбільш затребуваних промислових ферментів завдяки широкому спектру застосування у крохмале-патоковій, спиртовій, харчовій та інших галузях. Сучасні тенденції розвитку галузі спрямовані на впровадження високопродуктивного ферментаційного обладнання великого об'єму, мембранних технологій виділення та концентрування ферментів, автоматизованих систем управління процесом, що забезпечують стабільну якість готового продукту та раціональне використання сировинних і енергетичних ресурсів.

2. Охарактеризовано штам-продуцент *Bacillus licheniformis* з виробничої колекції підприємства за морфологічними та біохімічними ознаками, наведено перелік сировини та матеріалів, що використовуються у виробництві.

3. Розраховано матеріальний баланс виробництва на одну виробничу серію.

4. Виконано конструктивний розрахунок основного виробничого ферментера об'ємом 10 м³, прийнятого за об'єкт переоснащення. Обрано та обґрунтовано допоміжне технологічне обладнання виробничої лінії.

5. Розроблено технологічну та апаратурну схеми виробництва препарату «Альфалад БТ» з визначенням послідовності стадій процесу

6. Розроблено систему контролю виробництва, що включає вхідний контроль сировини та матеріалів, постадійний (міжопераційний) контроль на критичних контрольних точках та вихідний контроль готового продукту.

					162.01.03.00 000 ПЗ	Арк.
						90
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

7. Проаналізовано екологічні аспекти виробництва ферментного препарату «Альфалад БТ». Запропонований комплекс заходів з охорони довкілля (рекуперація тепла, замкнений цикл водовикористання, частотне регулювання приводів) забезпечує відповідність системи екологічного управління підприємства вимогам ДСТУ ISO 14001:2015.

8. Запропоновані у роботі технологічні та технічні рішення з переоснащення виробництва ферментного препарату «Альфалад БТ» забезпечують підвищення продуктивності виробничої лінії, поліпшення стабільності якості готового продукту та зниження екологічного навантаження порівняно з традиційним обладнанням.

					162.01.03.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		91

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Production, Purification, and Characterization of Thermostable α -Amylase Produced by *Bacillus licheniformis* Isolate AI20 / Y. R. Abdel-Fattah et al. *Journal of Chemistry*. 2013. Vol. 2013. P. 1–11. DOI: [10.1155/2013/673173](https://doi.org/10.1155/2013/673173).
2. Recent trends in production and potential applications of microbial amylases: A comprehensive review / Z. Ali et al. *Protein Expr. Purif.* 2025. Vol. 227. P. 106640. DOI: [10.1016/j.pep.2024.106640](https://doi.org/10.1016/j.pep.2024.106640).
3. Challenges and prospects of microbial α -amylases for industrial application: a review / P. P. Ashok et al. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2023. Vol. 40(2). P. 44. DOI: [10.1007/s11274-023-03821-y](https://doi.org/10.1007/s11274-023-03821-y).
4. Production of commercially important enzymes from *Bacillus licheniformis* KIBGE-IB3 using date fruit wastes as substrate / F. Aslam et al. *J. Genet. Eng. Biotechnol.* 2020. Vol. 18(1). P. 46. DOI: [10.1186/s43141-020-00060-8](https://doi.org/10.1186/s43141-020-00060-8).
5. Chiang J. P., Alter J. E., Sternberg M. Purification and Characterization of a Thermostable alpha-Amylase from *Bacillus licheniformis*. *Starch/Stärke*. 1979. Vol. 31(3). P. 86–92. DOI: [10.1002/star.19790310307](https://doi.org/10.1002/star.19790310307).
6. Bioprospecting of yeasts for amylase production in solid state fermentation and evaluation of the catalytic properties of enzymatic extracts / A. P. A. de Oliveira et al. *Afr. J. Biotechnol.* 2015. Vol. 14(14). P. 1215–1223. DOI: [10.5897/AJB2014.14062](https://doi.org/10.5897/AJB2014.14062).
7. de Souza P. M., de Oliveira Magalhães P. Application of microbial α -amylase in industry - A review. *Braz. J. Microbiol.* 2010. Vol. 41(4). P. 850–861. DOI: [10.1590/S1517-83822010000400004](https://doi.org/10.1590/S1517-83822010000400004).
8. Microbial Alpha-Amylase Production: Progress, Challenges and Perspectives / B. Elyasi Far et al. *Adv. Pharm. Bull.* 2020. Vol. 10(3). P. 350–358. DOI: [10.34172/apb.2020.043](https://doi.org/10.34172/apb.2020.043).

					162.01.03.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		92

- 28.Методичні рекомендації до виконання кваліфікаційної роботи бакалавра для здобувачів вищої освіти спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» ОП «Біотехнологія» / О. С. Калюжная та ін. Харків : НФаУ, 2024. 128 с.
- 29.Пирог Т. П., Ігнатова О. А. Загальна біотехнологія : підручник. Київ : НУХТ, 2009. 336 с.
- 30.Сидоров Ю. І., Влязло Р. Й., Новіков В. П. Процеси і апарати мікробіологічної промисловості. Технологічні розрахунки : навч. посіб. : у 3 ч. Ч. 1. Ферментація. Львів : Львів. політехніка, 2004. 240 с.
- 31.Сидоров Ю. І., Влязло Р. Й., Новіков В. П. Процеси і апарати мікробіологічної промисловості. Ч. 2. Обробка культуральних рідин. Львів : Львів. політехніка, 2004. 296 с.

					<i>162.01.03.00 000 ПЗ</i>	Арк.
						95
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

ДОДАТКИ

162.01.03.00.000 АС

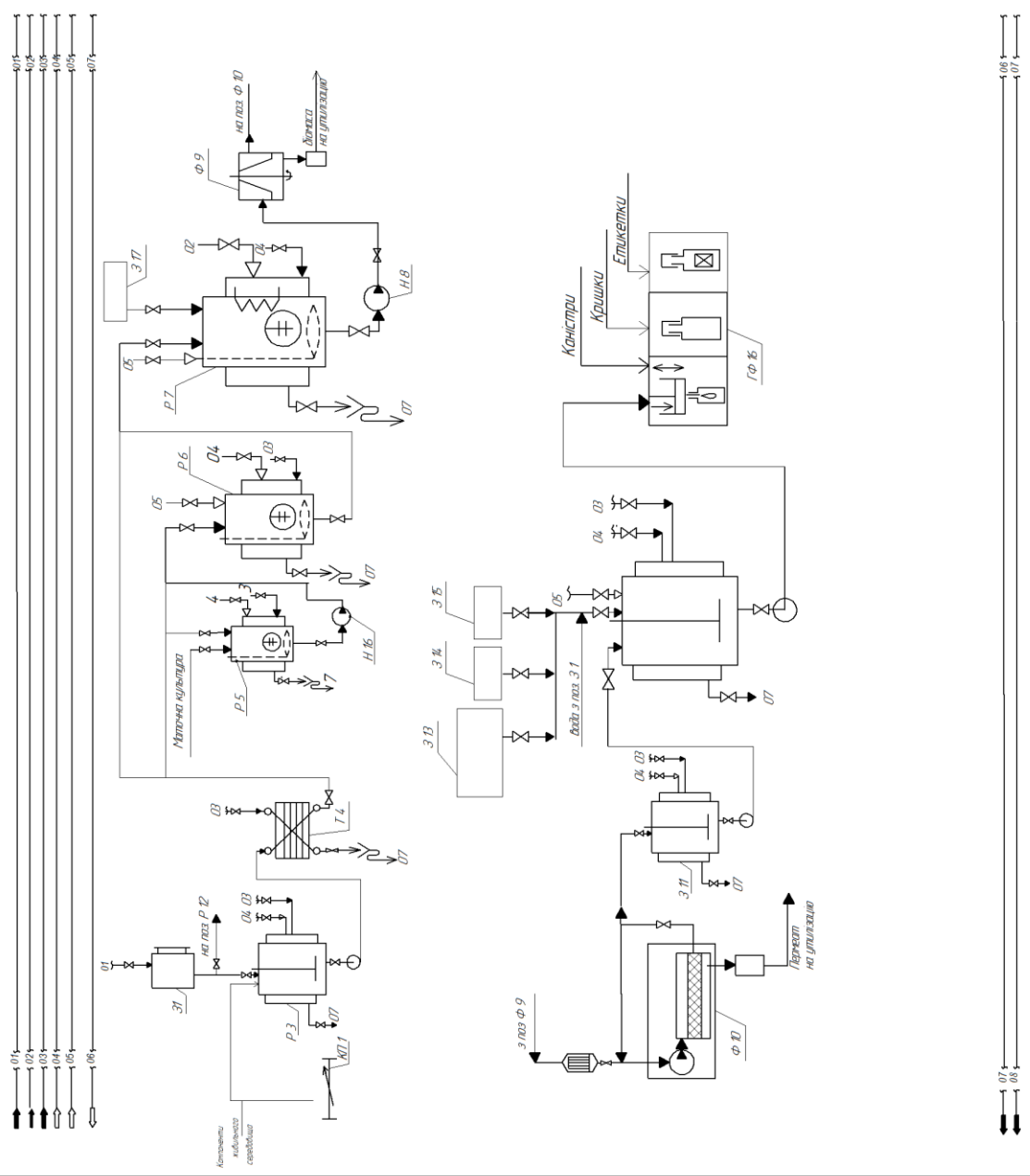


Таблица условных обозначений

Условное обозначение	Наименование соответствующей аппаратуры или детали
01	Водяной насос
02	Водяной насос
03	Водяной насос
04	Водяной насос
05	Специальный насос
06	Водяной насос
07	Водяной насос
08	Колодезь
09	Водяной насос

Перечень элементов схемы

Обозначение	Наименование	Кол-во
3.1	Водяной насос	1
М.1	Водяной насос	1
Р.3	Водяной насос	2
Т.4	Теплообменник	1
Р.5	Водяной насос	1
Р.6	Водяной насос	1
Р.7	Водяной насос	1
Н.8	Насос	1
Ф.9	Сепаратор	1
Ф.10	Устройство	1
3.11	Водяной насос	1
Р.12	Водяной насос	1
3.13, 3.14, 3.15	Водяной насос	3
ГФ.16	Водяной насос	1
3.17	Водяной насос	1

162.01.03.00.000 АС

Исполнитель	И.И.И.	Проверенный	П.П.П.
Составитель	С.С.С.	Утвержденный	У.У.У.
Дата	11.11.11	Лист	11
Масштаб	1:1	Код	11
Содержание	Схема водоснабжения		
Итого	Кол-во листов 11		

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

**АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ СТВОРЕННЯ
НОВИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ**

МАТЕРІАЛИ
XXXII МІЖНАРОДНОЇ НАУКОВО-ПРАКТИЧНОЇ
КОНФЕРЕНЦІЇ МОЛОДИХ ВЧЕНИХ ТА СТУДЕНТІВ

15–17 квітня 2026 року
м. Харків

Харків
НФаУ
2026

зв'язку з цим комбуча розглядається як перспективний функціональний продукт для профілактики та підтримки лікування метаболічних порушень.

У біомедичних дослідженнях комбучу вивчають щодо її антидіабетичного, імуномодулюючого та потенційного протипухлинного ефектів. Її біоактивні компоненти можуть регулювати клітинні сигнальні шляхи, знижувати запальні реакції та підтримувати детоксикаційні функції печінки.

У косметології інгредієнти, отримані з комбучі, зокрема ферментовані екстракти та бактеріальна целюлоза, активно застосовуються завдяки їхній біосумісності та біологічній активності. Вони проявляють антиоксидантні та омолоджувальні властивості, сприяють зволоженню та підвищенню еластичності шкіри, а також стимулюють регенерацію клітин. Крім того, метаболіти комбучі можуть брати участь у регуляції мікробіоти шкіри та проявляти антимікробну дію, що є важливим при лікуванні запальних процесів на поверхні шкіри.

Додатково встановлено, що культивування чайного гриба у середовищах з додаванням рослинних компонентів, таких як лікарські трави, фрукти та ягоди, підсилює функціональні властивості продуктів ферментації. Включення рослинної сировини підвищує вміст фенольних сполук і антиоксидантну активність, а також впливає на мікробний склад і метаболічний профіль кінцевого продукту.

Висновки. Отже, комбуча є багатофункціональною системою, що містить широкий спектр біологічно активних сполук і має значний потенціал застосування в медицині, косметології та при розробці функціональних продуктів. Подальші дослідження необхідні для з'ясування механізмів його дії та підтвердження клінічної ефективності.

СУЧАСНІ ПІДХОДИ ДО ОТРИМАННЯ БАКТЕРІАЛЬНОЇ α -АМІЛАЗИ ТА ЇЇ ПРОМИСЛОВЕ ЗАСТОСУВАННЯ

Кривобок І.М.

Науковий керівник: Хохленкова Н.В.

Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна
hohnatal@gmail.com

Вступ. Бактеріальні α -амілази (ЕС 3.2.1.1), зокрема ферменти роду *Bacillus*, уже тривалий час залишаються одними з найважливіших промислових біокаталізаторів. Це пояснюється їх здатністю працювати за підвищених температур (60–90 °С) і зберігати активність у досить широкому діапазоні рН (6–11). Окрім цього, для частини таких ферментів не є обов'язковою наявність іонів кальцію, що спрощує технологію їх використання. У зв'язку з цим інтерес до мікробного синтезу α -амілаз не зменшується, а останніми роками навіть помітно посилюється.

Мета дослідження. Проаналізувати сучасні підходи до отримання бактеріальної α -амілази та узагальнити основні напрями її використання на основі літературних даних 2022–2026 рр., звернувши увагу на зміни, які відбулися порівняно з попереднім періодом.

Матеріали та методи. Робота виконана шляхом аналітичного узагальнення наукових публікацій, представлених у міжнародних наукометричних базах даних за 2022–2026 роки.

Результати дослідження. Аналіз літератури показує, що нині основними способами отримання бактеріальної α -амілази залишаються глибинне та твердофазне культивування. Водночас підходи до організації цих процесів помітно змінилися. Якщо раніше перевага

надавалася стандартним поживним середовищам із відносно дорогими компонентами, то сьогодні все частіше використовують доступні джерела вуглецю та азоту, зокрема відходи агропромислового виробництва. Серед них найчастіше згадуються пшеничні висівки, кукурудзяні качани, картопляні лушпайки, яблучні вичавки та інші подібні субстрати.

Окремо варто відзначити зміни у підходах до оптимізації процесу. Замість поступової зміни окремих факторів дедалі частіше застосовують математичні методи, які дозволяють оцінити вплив одразу кількох параметрів. Це дає змогу швидше отримати більш обґрунтовані результати. Крім того, у ряді робіт описано використання режимів культивування з поетапним внесенням поживних речовин, що також позитивно впливає на вихід ферменту.

Цікавим є і напрям досліджень, пов'язаний із ферментами, активність яких не залежить від іонів кальцію. Наприклад, α -амілаза штаму *Bacillus sp.* BKL40 зберігає активність після нагрівання при 60–70 °C і залишається стабільною у широкому діапазоні pH. Такі властивості роблять її зручною для використання в різних технологічних процесах.

Паралельно розвиваються дослідження, спрямовані на отримання штамів із покращеними характеристиками. Йдеться, зокрема, про підвищення термостійкості та ефективності ферментів, що досягається за рахунок генетичних змін продуцентів.

Сфера застосування бактеріальної α -амілази залишається досить широкою. Вона використовується у харчовій промисловості (виробництво сиропів, хлібопекарство, пивоваріння), а також у текстильній, паперовій галузях, при виробництві мийних засобів, біопалива та очищенні стічних вод.

Висновки. Таким чином, можна відзначити, що за останні роки підходи до отримання бактеріальної α -амілази зазнали помітних змін. Сучасні технології орієнтовані на використання доступної сировини, підвищення ефективності процесу та зменшення його впливу на довкілля. При цьому штами роду *Bacillus* і надалі залишаються основними продуцентами, а дослідження у цьому напрямі мають цілком практичне значення для розвитку біотехнології.

ОБґРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ПРОБІОТИЧНОГО ШТАМУ ДЛЯ ВИРОБНИЦТВА ФУНКЦІОНАЛЬНОГО ПИВА

Муратов Д.В.

Науковий керівник: Хохленкова Н.В.

Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна

hohnatal@gmail.com

Вступ. Розширення асортименту функціональних харчових продуктів є одним із пріоритетних напрямів сучасної харчової біотехнології. Пиво, як традиційний продукт мікробної ферментації, становить перспективну основу для збагачення пробіотичними культурами завдяки наявності поживних речовин, необхідних для підтримки їх життєздатності. Водночас введення молочнокислих бактерій у пивне середовище пов'язане з низкою технологічних труднощів: інгібувальна дія ізомеризованих α -кислот хмелю на грампозитивні мікроорганізми, кисле середовище (pH 3,8–4,5), підвищений вміст CO₂ та обмежений рівень засвоеного азоту суттєво знижують виживаність пробіотичних культур. У зв'язку з цим вибір штаму, стійкого до зазначених умов і здатного зберігати терапевтично значущу кількість клітин ($\geq 10^6$ КУО/мл) у готовому продукті, є принциповим завданням при розробленні технології функціонального пива.



МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

ДИПЛОМ III СТУПЕНЯ

нагороджується

КРИВОБОК Інна

за участь у секційному засіданні студентського наукового
товариства кафедри
біотехнології

**XXXII МІЖНАРОДНОЇ НАУКОВО-ПРАКТИЧНОЇ
КОНФЕРЕНЦІЇ
МОЛОДИХ ВЧЕНИХ ТА СТУДЕНТІВ
«АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ СТВОРЕННЯ НОВИХ
ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ»**

Ректор закладу
вищої освіти



Олександр КУХТЕНКО

15 квітня 2026 р. м. Ужгород

