

Міністерство освіти і науки України
Одеський національний технологічний університет
Навчально-науковий інститут харчових технологій ім. М.О. Грішина
Кафедра харчової хімії, експертизи та біотехнологій
Перший ступінь вищої освіти «Бакалавр»
Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»
Освітня програма «Біотехнології та біоінженерія»



КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА БАКАЛАВРА
на тему: «Удосконалення технології
амілолітичного ферментного препарату»

Здобувачки Кідакової Д.В.
(прізвище та ініціали студента)

Керівник: к.т.н., ст. викл. Швець Н.О.
(посада, прізвище та ініціали)

Консультант: проф. Самофатова В.А.
(посада, прізвище та ініціали)

Кваліфікаційна робота допускається до захисту

Рішення кафедри від 10.12.2025 р., протокол № 4

Завідувачка кафедри ХХЕтаБ ПІДПИСАНО Антоніна КАПУСТЯН
(підпис) (Ім'я ПРІЗВИЩЕ)

Одеса – 2025 рік

Одеський національний технологічний університет

(повне найменування вищого навчального закладу)

Навчально-науковий інститут харчових технологій ім. М.О. Грішина
Кафедра харчової хімії, експертизи та біотехнологій
Перший рівень вищої освіти «Бакалавр»
Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»
Освітня програма «Біотехнології та біоінженерія»

ЗАТВЕРДЖУЮ

зав. кафедри ХХЕтаБ

ПІДПИСАНО д.т.н., проф. Капустян А.І.
(підпис)

«06» лютого 2025 р.

ЗАВДАННЯ
НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

Кідакової Дар'ї Віталіївни

(прізвище, ім'я та по батькові)

1. Тема роботи: Удосконалення технології амілолітичного ферментного препарату

затверджена наказом ОНТУ від 08.10.2025 р. наказ №543-03

2. Термін здачі здобувачем закінченої роботи 24.12.2025 р.

3. Вихідні дані роботи

Об'єкт дослідження: фермент α -амілаза

Предмет дослідження: процеси, які дозволяють підвищити ефективність виробництва за допомогою біотехнологічних методів

Потужність підприємства в умовних тонах на рік (G_{UT})=20

Кількість робочих днів у рік (T_{RD})=300

4. Перелік питань, які потрібно розробити

Вступ

РОЗДІЛ 1 Огляд літератури

РОЗДІЛ 2 Характеристика *B. subtilis* в якості продуцента α -амілази

РОЗДІЛ 3 Аналіз ферментного ринку України

РОЗДІЛ 4 Біохімічні процеси отримання α -амілази продуцентом *B.subtilis*

РОЗДІЛ 5 Поетапна технологічна схема отримання α -амілази продуцентом *B.subtilis*

РОЗДІЛ 6 Економічні розрахунки

РОЗДІЛ 7 Охорона праці та навколишнього середовища

Висновки

Список використаних джерел

5. Перелік графічного матеріалу (з точним зазначенням обов'язкових креслень)

1. Постадійна схема технології отримання α -амілази

2. Апаратурна схема технології (може бути 2 листи)

3. Основні апарати, що застосовані у даній технології (за вибором)

4. Зведені результати економічних розрахунків

6. Консультанти по роботі, із зазначенням розділів роботи, що стосуються їх

Розділ	Консультант	<i>ПІДПИСАНО</i> , дата	
		Завдання видав	Завдання прийняв
РОЗДІЛ 4 Економічні розрахунки	Самофатова В.А., проф.		

7. Дата видачі з: «03» лютого 2025 року

Керівник ПІДПИСАНО Наталія ШВЕЦЬ
(підпис)
Завдання прийняв до виконання ПІДПИСАНО Дар'я КІДАКОВА
(підпис)

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів кваліфікаційної роботи	Термін виконання етапів роботи	Примітка
Робота над пояснювальною запискою			
1	Вступ	15.03.2025	виконано
2	РОЗДІЛ 1 Огляд літератури	20.03.2025	виконано
3	РОЗДІЛ 2 Характеристика <i>B. subtilis</i> в якості продуцента α -амілази	21.03.2025	виконано
4	РОЗДІЛ 3 Аналіз ферментного ринку України	15.04.2025	виконано
5	РОЗДІЛ 4 Біохімічні процеси отримання α -амілази продуцентом <i>B.subtilis</i>	03.05.2024	виконано
6	РОЗДІЛ 5 Поетапна технологічна схема отримання α -амілази продуцентом <i>B.subtilis</i>	20.05.2024	виконано
7	РОЗДІЛ 6 Економічні розрахунки	14.10.2025	виконано
8	Розділ 7 Охорона праці та навколишнього середовища	17.10.2025	виконано
9	Висновки	21.10.2025	виконано
10	Список використаних джерел	27.10.2025	виконано
Виконання графічного матеріалу			
11	Поетапна схема отримання α -амілази	03.11.2025	виконано
12	Апаратурна схема виробництва α -амілази з використанням <i>B.subtilis</i>	05.11.2025	виконано
13	Апаратурна схема ферментера	07.11.2025	виконано
14	Зведені результати економічних розрахунків	12.11.2025	виконано
15	Термін подання роботи на перевірку керівнику	17.11.2025	виконано
16	Термін подання роботи на кафедру	21.11.2025	виконано
17	Зовнішнє рецензування	18.12.2025	виконано
18	Захист кваліфікаційної роботи	24.12.2025	виконано

Здобувач-дипломник ПІДПИСАНО Дар'я КІДАКОВА
(підпис) (прізвище та ініціали)
Керівник роботи ПІДПИСАНО Наталія ШВЕЦЬ
(підпис) (прізвище та ініціали)

Несу відповідальність за ідентичність електронного та друкованого варіантів кваліфікаційної роботи, даю згоду на обробку персональних даних та не заперечую проти розміщення кваліфікаційної роботи на офіційних web-ресурсах ОНТУ.

Підтверджую, що в кваліфікаційній роботі відсутні порушення норм академічної доброчесності.

АНОТАЦІЯ

Тема: «Удосконалення технології амілолітичного ферментного препарату»

Спеціальність: 162 «Біотехнології та біоінженерія»

Освітня програма: Біотехнології та біоінженерія

Здобувач першого рівня вищої освіти «Бакалавр»: Кідакова Д.В

Керівник: к.т.н., ст. викл. Швець Н.О.

Ключові слова: α -амілаза, фермент, обробка, *Bacillus subtilis*, ферментер, культивування.

Актуальність: дана тема залишається актуального у зв'язку воєнного часу та зумовлена необхідністю забезпечення внутрішнього ринку доступним та якісним ферментом α -амілази, яка використовуються у виробництві медичних засобів, хлібопеченні, виробництві спирту, кондитерської та крохмалепатокової промисловостях та інших. В умовах обмеженого імпорту та зростаючої потреби в імпортозаміщенні в Україні є стратегічно важливим для підвищення економічної незалежності та підтримки здоров'я населення.

Мета: удосконалення схеми виробництва ферменту α -амілази .

Об'єкт дослідження: α -амілаза.

Предмет дослідження: процеси, які дозволяють підвищити ефективність виробництва за допомогою біотехнологічних методів.

Кваліфікаційну роботу представлено сучасний стан ринку бактеріального ферменту α -амілази та особливості її виробництва. Проаналізовано методи вилучення α -амілази, їх фізико-хімічні властивості, джерела отримання з *Bacillus subtilis*. Запропоновано замінити ферментер на більш новий і в якості ПС використовувати МПБ з 1% глюкози. Описано технологічну схему виробництва, інженерно-технологічну частину, матеріальні потоки та основне обладнання. Проведено економічне обґрунтування, маркетинговий аналіз, а також наведено заходи з охорони праці та довкілля.

Робота представлена пояснювальною запискою та графічною частиною. Обсяг — 92 сторінок, містить вступ, 7 розділів, висновки, список літератури (107 джерела), 1 схема, 12 таблиць і додатки.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ПС – поживне середовище

МПА – м'ясо – пептонний агар;

МПБ – м'ясо – пептонний бульйон;

ДР – допоміжні роботи

ТП – технологічний процес

ПР – підготовчі роботи;

ЗМІСТ

Анотація	4
ВСТУП	7
РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	9
1.1 Характеристика ферменту α -амілаза та механізм її дії.....	9
1.2 Використання α -амілази.....	13
1.3 Джерела одержання α -амілази.....	15
ВИСНОВОК ДО 1 РОЗДІЛУ	18
РОЗДІЛ 2 . ХАРАКТЕРИСТИКА <i>B. subtilis</i> В ЯКОСТІ ПРОДУЦЕНТА α-АМІЛАЗИ	20
2.1 Морфолого-культуральні та фізичні ознаки <i>B. subtilis</i>	20
2.2. Поживні середовища для культивування <i>B. subtilis</i>	21
2.3 Методи отримання α -амілази.....	24
ВИСНОВОК ДО 2 РОЗДІЛУ	31
РОЗДІЛ 3. АНАЛІЗ ФЕРМЕНТНОГО РИНКУ УКРАЇНИ	32
ВИСНОВОК ДО 3 РОЗДІЛУ	35
РОЗДІЛ 4. БІОХІМІЧНІ ПРОЦЕСИ ОТРИМАННЯ α-АМІЛАЗИ ПРОДУЦЕНТОМ <i>B.subtilis</i>	36
РОЗДІЛ 5. ПОЕТАПНА ТЕХНОЛОГІЧНА СХЕМА ОТРИМАННЯ α-АМІЛАЗИ ПРОДУЦЕНТОМ <i>B.subtilis</i>	40
РОЗДІЛ 6. ЕКОНОМІЧНІ РОЗРАХУНКИ	56
6.1 Маркетинговий аналіз ринку α -амілази в Україні.....	56
6.2 Техніко-економічне обґрунтування необхідності впровадження проєкту.....	57
6.3 Розрахунок економічної ефективності проєкту.....	58
ВИСНОВОК ДО РОЗДІЛУ 6	71
РОЗДІЛ 7. ОХОРОНА ПРАЦІ ТА НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА	73
ВИСНОВОК ДО РОЗДІЛУ 7	77
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	78
Додаток А Постадійна схема технології α -амілази з <i>B.subtilis</i>	89
Додаток Б Апаратурна схема технології.....	90
Додаток В Основні апарати, що застосовані у даній технології.....	91
Додаток Г Зведені результати економічних розрахунків.....	92

КРБ.ХХЕ та Б 1. 543-03.3.1								
Зм.	Аркуш	№ докум.	Підпис	Дата	Пояснювальна записка	Літ.	Аркуш	Аркушів
Розроб.		Кідакова Д.В	ПІДПИСАНО	10.12.25				
Керівник		Швець Н.О.	ПІДПИСАНО	10.12.25			6	92
Керівник						ОНТУ 2025		
Зав.кафедр		Капустян А.І.	ПІДПИСАНО	10.12.25				

ВСТУП

Удосконалення біотехнології отримання α -амілази з *B.subtilis* є актуальною темою в наші часи, так як α -амілаза є важливою сировиною, яку ми використовуємо в багатьох галузях. Саме вдосконалення технологій допоможе оптимізувати використання і знизить кількість шкідливих відходів в наш час.

Нажаль, в умовах воєнного часу, країна стискається з численними викликами, зростаннями цін на сировину, обмеження ресурсів та нестабільністю постачання, тому саме забезпечення ефективного та безпечного процесу отримання α -амілази набуває критичного значення, оскільки це допоможе зберегти виробничі потужності які допоможуть не залежати від зовнішніх ресурсів і гарантувати стабільне постачання продукції в наш ринок [1].

Війна часто стимулює нові наукові дослідження та технологічні інновації. Інвестування в біотехнології допоможе призвести прогресу у багатьох галузях, яке згодом дасть користь не лише в військовий час але й в мирний також. Удосконалення технологій дозволять нам отримувати більш високоякісну α -амілазу, що дозволить зберегти більш високу чистоту кінцевого продукту що і є екологічно чистим, оскільки не потребує використання органічних розчинників [2].

Також важливим напрямком є переробка відходів і залишків поживних середовищ та продуктів життєдіяльності *B.subtilis* після видобутку α -амілази для виробництва біопалива та кормових добавок, що зменшує залежність від традиційних джерел енергії та мінімізує кількість відходів. Військові дії сприяли розвитку локальних підприємств, які впроваджують екологічно чисті технології, наприклад, супер-критичну екстракцію з використанням CO_2 , яка дозволяє отримувати високоякісну α -амілазу без використання шкідливих хімічних розчинників [3].

Такі рішення не лише забезпечують збереження високої якості української α -амілази, але й роблять процес її виробництва екологічно відповідальним, що є важливим як для внутрішнього ринку, так і для зміцнення позицій України на світовому ринку [4].

Також треба враховувати те, що під час воєнних дій більшість нашої землі потребує екологічно безпечне відновлення від забруднень хімічними речовинами та металами з боєприпасів. Завдяки геної модифікації можна розробити штам мікроорганізмів, які будуть стійкі до стресових умов, це буде особливо важливо для регіонів, які через військові дії порушено систем доступу до води та енергопостачання. Можна також розглянути використання мікроорганізмів для біодеградації небезпечних речовин які залишилися в ґрунті [5].

Такий підхід допоможе знизити ризики в екології, дати робочі місця українцям і допоможе підняти економіку України у період відновлення після війни.

Актуальність роботи: Дана тема залишається актуального у зв'язку воєнного часу та зумовлена необхідністю забезпечення внутрішнього ринку доступною та якісною α -амілазою, яка використовуються у виробництві медичних засобів, хлібопеченні, виробництві спирту, кондитерської та крохмалепатокової промисловостях та інших.. В умовах обмеженого імпорту та зростаючої потреби в імпортозаміщенні, розвиток біотехнологічного виробництва мікробної α -амілази в Україні є стратегічно важливим для підвищення економічної незалежності та підтримки здоров'я населення [6].

Мета роботи: Метою роботи є удосконалення біотехнології мікробної α -амілази за рахунок заміни ферментера на більш новий і в якості ПС використовувати МПБ з 1% глюкози.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Характеристика ферменту α -амілаза та механізм її дії

Амілолітичні ферменти - група ферментів, необхідних для оцукрювання крохмалю, завершують процес гідролізу з утворенням моносахаридів або олігосахаридів [7] . До групи амілолітичних ферментів належать α - і β -амілаза, глюкоамілаза, ізоамілаза, пуллуланаза . За принципом дії на субстрат амілолітичні ферменти поділяють на ендо- та екзоферменти.

Ендоферменти. Прикладом ендоферменту є α -амілаза, яка розриває внутрішньомолекулярні зв'язки у високополімерних ланцюгах амілопектину та амілози (діє всередині молекули), дія α -амілази на крохмаль зображена на рис.1.1. Також до ендоферментів належить пуллуланаза, але, на відміну від α -амілази, цей фермент гідролізує α -1,6-зв'язки в пуллулані, амілопектині та декстринах, у яких є α -1,6 зв'язки.

Екзоферменти діють на субстрат із нередукуючого кінця, відщеплюючи залежно від властивостей ферменту або моно-, або дисахариди. Як приклад можна навести β -амілазу, яка гідролізує α -1,4-зв'язків у молекулі крохмалю з нередукуючого кінця. Ще одним прикладом екзоферментів є фермент амілоглюкозидаза , яка гідролізує α -1,4-зв'язків у молекулі крохмалю [8].

Фермент α -амілаза(1,4- α -D-глюкан-глюканогідролази)-фермент амілолітичної дії, яка належить до класу гідролаз, підкласу глікозидаз. Фермент α -амілаза здатна гідролізувати внутрішні α -1,4-глікозидні зв'язки в крохмалі, глікогені і споріднених їм полі- і олігосахаридах.

Залежності від складу кінцевих продуктів гідролізу крохмалю α -амілази можна віднести до двох типів:

–одекстринувальні (розріджувальні), які призводять до утворення мальтоолігосахаридів (мальтопентози і мальтогексози)

–дцукрогенні, внаслідок дії яких, головним чином, утворюється мальтоза і глюкоза.

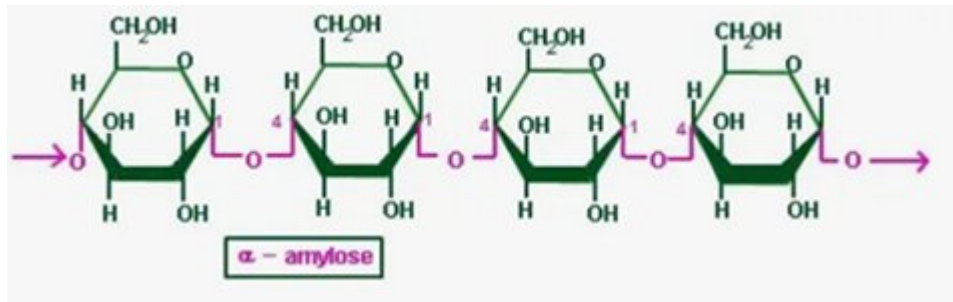


Рисунок 1.1 Дія α -амілази на крохмаль

Такі властивості використовуються в різних галузях промисловості та сільського господарства для гідролізу крохмалевмісної сировини.

Особливості використання α -амілази у різних сферах життєдіяльності людини зумовлені різноманітними властивостями ферменту, зокрема особливостями їхньої структурної організації, фізико-хімічними властивостями, субстратною специфічністю, а також штамом-продуцентом [9].

Бактеріальна α -амілаза : фермент що, каталізує гідроліз крохмалю до декстринів різного ступеня полімеризації. Оптимум дії бактеріальної α -амілаза проявляється при температурі $(60 - 70)^\circ \text{C}$; термостабільна - α -амілаза при температурі $(80 \pm 1)^\circ \text{C}$.

Грибна α -амілаза : фермент, який каталізує розщеплення субстрату з більш глибоким ступенем гідролізу, ніж бактеріальні; при цьому утворюються як низькомолекулярні декстрини, так і мальтоза і глюкоза [10]. Оптимум дії грибної α -амілаза проявляється при температурі $(50 - 55)^\circ \text{C}$. Порівняльна характеристика α -амілази різного походження наведена у табл.1.1.

Рослинна α -амілаза : фермент, який виявлено в рослинах, наприклад у пророслому зерні пшениці, жита, ячменю та вівса. Вона здатна гідролізувати полісахаридний ланцюг крохмалю та інших довголанцюгових вуглеводів у будь-якому місці, що призводить до утворення олігосахаридів різної довжини.

Рослинна α -амілаза присутня в насінні та розщеплює крохмаль на цукор, який зародок використовує для стимулювання росту.

Активність рослинної α -амілази рН оптимум - 6,8-7,0 ; оптимальна температура – $(52 \pm 1)^\circ \text{C}$ [11,12].

Таблиця 1.1 Порівняльна характеристика α -амілаз різного походження

Джерело α -амілази	Показник		
	pH	Молекулярна маса, кДа	Оптимальна температура дії T, °C
Грибного походження	5,5...8,0	50	50-55
Рослинного походження	6,8...7,0	50	52 ±1
Мікробіологічного походження	5, 0...5,5	10 ... 210	54-56

Бактеріальна низькотемпературна α -амілаза – фермент гідролізує α -1,4-глікозидні зв'язок крохмалю , що призводить до швидкого зниження в'язкості клейстеризованих розчинів .

Бактеріальна високотемпературна α -амілаза - гідролізує хаотичним чином α -1,4-глікозидні зв'язки в полісахаридах з утворенням декстринів, знижує в'язкість замісів із крохмалевмісної сировини готує їх до подальшого гідролізу.

Спільні функції :

- роздріджує сировину;
- знижує в'язкість замісів крохмалевмісної сировини;
- готує сусло до оцукрювання;
- зовнішній вигляд : густа сировина ,від жовтого до світло-коричневого коліру

– дозування : Рекомендоване дозування 0,70-0,80 кг/т крохмалю ;

Функції бактеріальної високотемпературної α -амілази :

- оактивність : 2000 од/мл ;
- лрh оптимум : 6,0-6,5 ;
- лтемпературний діапазон роботи препарату: (60-70)°C [13].

Функції бактеріальної низькотемпературної α -амілази :

- жактивність : 800 од/мл ;
- лрh оптимум : 6,5-7,0 ;

–атемпературний діапазон роботи препарату: (90-95)°C [13].

Нами обрана як найбільш використана високотемпературна α -амілаза ,завдяки своїм параметрам.

Механізм каталітичної дії α -амілаз

Загальноприйнятий каталітичний механізм дії α -амілази полягає у збереженні α -аномерної конфігурації субстрату під час гідролізу, який був запропонований Koshland [14]. Стабільним є α -глікозидний зв'язок, що розщеплюється під час реакції, і є дуже стабільним, швидкість його гідролізу за кімнатної температури дуже низька [15,16] .

У механізм розщеплення глікозидного зв'язку залучені два каталітичних залишка в активному центрі – це залишок глютамінової кислоти (Glu 261) та залишок аспартату (Asp 231).

Цей механізм складається з 5 етапів:

1. Відбувається зв'язування субстрату в активному центрі, після чого залишок глютамінової кислоти віддає протон кисню глікозидного зв'язку між двома молекулами глюкози , а аспартат діє на положення C1 глюкози в субсайті.

2. Під час процесу відбувається формування проміжного стану іоноподібного оксокарбонію з наступним утворенням ковалентної проміжної речовини [17].

3. У процесі каталізу протонувана молекула глюкози в субсайті ферменту виходить з активного центра, а молекула води переміщується в активний центр та атакує ковалентний зв'язок між молекулою глюкози в субсайті і аспартатом.

4. В процесі реакції відбувається повторне утворення проміжного стану, який характеризується іонною формою оксокарбонію.

5. У активному центрі ферменту молекула води віддає протон глютамату. Оксиген цієї молекули води замінює оксокарбонійний зв'язок між молекулою глюкози в субсайті -1 та аспартатом, утворюючи новий гідроксильний радикал у положенні C1- глюкози в субсайті -1 [15].

Крім зазначених вище амінокислотних залишків, які беруть участь у розщепленні глікозидного зв'язку, важливу роль в цьому процесі відіграють

також залишки гістидину, аргініну і тирозину. Вони забезпечують правильне розташування субстрату в активному центрі ферменту, забезпечують необхідну орієнтацію нуклеофіла, стабілізацію проміжних сполук що утворюються під час реакції, та поляризацію електронної структури субстрату [18]. Основні етапи каталітичної дії α -амілази наведено на рис. 1.2

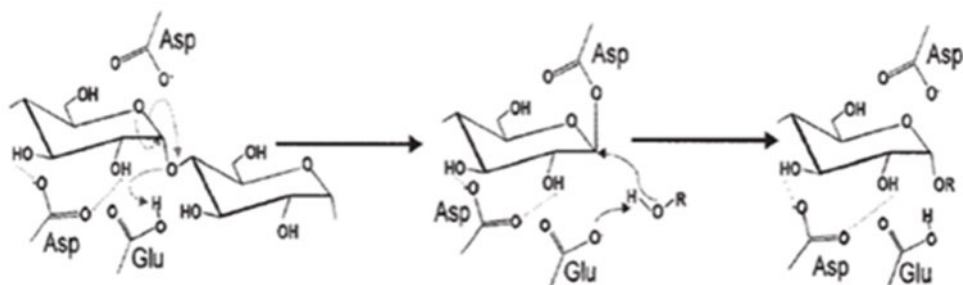


Рисунок 1.2 Основні етапи каталітичної дії α -амілази

Завдяки тому, що α -амілаза є позаклітинним ферментом, яка характеризується різними фізико-хімічними властивостями, широкою субстратною специфічністю, α -амілаза застосовується в різних галузях промисловості. Здатність α -амілази зберігати активність і стабільність за високих температур забезпечує зниження витрат на одержання кінцевого продукту, також α -амілаза, активна за кислих і лужних значень рН.

1.2 Використання α -амілази

Фермент α -амілаза використовується в різних галузях промисловості та сільського господарства для гідролізу крохмалевмісної сировини, а саме в хлібопекарській, спиртовій, пивоварній, кондитерській і крохмале-патоковій промисловостях (виробництво паток, сиропів, глюкози), у виготовленні круп'яних виробів, овочевих продуктів, виробів із фруктів (соків, сиропів, пектину), дитячого харчування, в текстильній, паперовій промисловості у виробництві мийних засобів, а також у медицині [9].

Виробництво мийних засобів.

Виробництво мийних засобів є основним споживачем ферментів як за обсягом, так і за вартістю. Використання ферментів у складі мийних засобів підвищує їхню здатність видаляти складні плями і робить їх екологічно

безпечним продуктом. В складі всіх рідких мийних засобів завжди є α -амілаза [19, 20, 21]. Вони використовуються в засобах для прання та миття посуду з метою розкладання залишків крохмальних продуктів, таких як картопля, підлива, заварний крем, шоколад тощо до декстринів та інших олігосахаридів [22]. Фермент α -амілаза має активність за низьких температур і лужного рН, зберігаючи необхідну стабільність у процесі прання. Прикладом амілаз, що використовуються у виробництві мийних засобів, може слугувати α -амілаза з роду *Bacillus* [21].

Виробництво спирту. Виробництво етанолу відіграє важливу роль в економіці багатьох країн світу. У виробництві етанолу крохмаль є найбільш широко використовуваним субстратом через його низьку ціну та легкодоступність сировини [23]. Під час виробництва спирту крохмаль необхідно спочатку розчинити, а потім піддати двом ферментативним стадіям гідролізу для отримання ферментованих цукрів. Біоконверсія крохмалю в етанол охоплює гідроліз і оцукрювання, за яких крохмаль перетворюється на цукор за допомогою α -амілази [24, 25]. Серед бактерій на першій стадії гідролізу крохмалю використовується α -амілаза, отримана з бактерій роду *Bacillus* [26].

Текстильна промисловість. В текстильній промисловості α -амілаза використовується для розшліхтування текстилю. Проклеювальні речовини, такі як крохмаль, наносять на пряжу для запобігання розриву нитки, після чого він легко вимивається водою [19, 27]. Для цих цілей використовується головним чином α -амілаза роду *Bacillus*.

Паперова промисловість. Застосування α -амілази в целюлозно-паперовій промисловості пов'язане з модифікацією крохмалю крейдованого паперу, тобто для виробництва низьков'язкого високомолекулярного крохмалю [19,28]. Крохмаль - хороший проклеювальний матеріал для оздоблення паперу, що поліпшує його якість і підвищує його жорсткість і міцність. Це покриття служить для того, щоб зробити поверхню паперу досить гладкою та міцною, а також для поліпшення якості письма. В'язкість природного крохмалю, використовуваного

для цих цілей, занадто висока і її можна змінити шляхом часткового гідролізу полімеру за допомогою α -амілази [19, 29].

У медицині . Дослідження рівня α -амілази використовують, головним чином, для діагностики та моніторингу лікування гострого панкреатиту, диференціації панкреатиту від інших гострих або домінальних розладів, а також у діагностиці інших видів патології підшлункової залози.

Хлібопечення. використовують α -амілазу у хлібопеченні для збільшення об'ємного виходу хліба, поліпшення кольору м'якушки та скоринки. Брак α -амілази знижує атакуваність крохмалю, цукроутворювальну та газоутворювальну здатності борошна. Через це готовий продукт набуває низького об'єму, нерозвиненої пористості та сірого відтінку м'якушки [30].

Виробництво соків. У виробництві соків α -амілазу використовують для підвищення його якості та збільшення обсягу. Ферментативна обробка сприяє максимальному вилученню соку із сировини та дає змогу оптимізувати такі процеси, як віджимання, відстоювання і видалення твердих частинок.

Соки, що пройшли ферментативну обробку, більш прозорі та мають більшу споживчу привабливість [31].

1.3 Джерела одержання α –амілази

Фермент α -амілаза може бути отримана з рослин, тварин і мікроорганізмів.

Найпоширенішими джерелами рослинної α -амілази є : проросле зерно пшениці, жита, ячменю , вівса , кукурудзи , гороха, квасолі та т.і.

Отримання α -амілази з рослини має кілька недоліків :

- невеликий вміст α -амілази в тканинах і зерні рослин.
- необхідність жорсткого контролю зерна. Це стосується як мікробіологічних показників зараженості, так і фізико-хімічних властивостей ферментативного комплексу [32].

Джерелами тваринної α -амілази слугують панкреатична залоза, печінка та тонкий кишківник тварин (наприклад: корів, свиней, овець тощо). У здорових тварин найбільша активність припадає на α -амілазу, що виробляється слизовою

оболонкою тонкого кишечника. Крім того, для очищення α -амілази традиційними методами потрібне дороге обладнання, що робить процес трудомістким і може призвести до збільшення втрат кінцевого продукту.

Найпоширенішими продуцентами бактеріальної α -амілази є представники роду *Bacillus*, а саме: *B.subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus amyloliquefaciens* [33–38].

Також амілазу було виявлено також у деяких представників патогенних бактерій (*Vibrio cholerae*, *Bacillus anthracis*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Pneumococcus*), хоча промислове значення, звичайно, можуть мати і фактично мають лише непатогенні бактерії [39].

Особливістю більшості ферментних препаратів, що застосовуються в промислових процесах, є їхня термостабільність [40,41]. що сприяє зниженню собівартості кінцевого продукту за рахунок скорочення часу та кількості електроенергії, необхідних для його одержання [42]. Тому термофільні організми привертають до себе особливу увагу як джерела термостабільних ферментів. Продуцентами термостабільних ферментів є представники облігатних термофільних архебактерій – родів *Pyrococcus* (*P. furiosus*, *P. woesei*), *Sulfolobus* (*S. solfataricus*, *acidocaldarius*) [43,44]. *Thermococcus* (*T. aggregans*, *T. fumicolans*, *T. hydrothermalis*, *T. litoralis*, *T. profundus*) та представників гіпертермофільних еубактерій – родів *Thermotoga* (*T. maritima*), *Thermus* (*T. filiformis*), *Rhodothermus* (*R. marinus*), які були виділені з гарячих джерел, вулканів, гейзерів [45,46]. Однак дуже важко відтворити природні умови існування під час вирощування екстремально термофільних організмів, особливо в промислових масштабах. Тому альтернативним методом отримання високотермостабільних ферментів є створення рекомбінантних штамів, що продукують фермент із бажаними властивостями.

З цією метою використовують такі мікроорганізми: *Escherichia coli* [44,47], *B. subtilis* [47], *Saccharomyces cerevisiae* [44,48].

Носіями ативної α -амілази серед грибів є роди : Серед грибів є продуценти ферментів-організми, які синтезують ферментні комплекси або

індивідуальні ферменти. Більшість позаклітинних ферментів міцеліальних грибів-гідролази, що діють на полісахариди, білки, ліпіди і нуклеїнові кислоти.

Деякі види грибів, які є продуцентами ферментів:

Гриби родів *Aspergillus* (*A. oryzae*, *A. awamori*, *A. niger*). Утворюють гідролітичні ферменти, особливо протеолітичні (протеїнази).

Види роду *Trichoderma*. Продуценти ферментів деградації органічних матеріалів, в тому числі хітиназ, що беруть участь в лізисі міцелію, і целюлаз.

Гриби роду *Trametes* (наприклад, *Trametes versicolor* — трутовик Різнокольоровий). Продуценти позаклітинних гідролітичних і окислювальних ферментів, основними з яких є лакказа, лігнін - і марганець пероксидази.

Вищі базидіальні гриби родів *Irpex*, *Trametes*, *Fomitopsis*, *Ganoderma*, *RussuAspergillus* [49-52], *Penicillium* [53], *Mucor* [54], *Rhizopus* [46], *Acremonium* [55], *Trichoderma*.

Ферменти, що виробляються грибами, синтезуються всередині клітини, а потім секретуються поза клітиною. Це дозволяє розщеплювати складні макромолекули на менші одиниці, які повинні бути поглинені клітиною для росту та асиміляції.

На активність ферментів впливають, наприклад:

Наявність білкових субстратів (індукторів) — наприклад, казеїну, желатину, білків зерна (клейковини).

Умови навколишнього середовища - рівень ферментів залежить від рН, температури, наявності та концентрації нітратів і цукрів.

Продуценти α -амілаз виявлено і серед актиноміцетів (*Nocardiosis*, *Nocardia*, *Streptomyces*, *Thermomonospora*, *Thermobifida*, *Thermoactinomyces* та дріжджів (*Cryptococcus*, *Saccharomycopsis*) [56–62].

Таким чином, представники різних таксономічних груп мікроорганізмів здатні продукувати активні α -амілази, що відрізняються за своїми властивостями.

ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 1

1. Огляд літератури підтвердив, що α -амілаза є цінними компонентами для харчової, фармацевтичної та паперовій та інших промисловостях завдяки своїм унікальним фізико-хімічним та каталітичним властивостям.
2. Вдосконалення біотехнології виробництва α -амілази є важливим для оптимізації використання ресурсів та зменшення відходів. В умовах війни, коли ресурси обмежені, особливо важливо забезпечити ефективність та незалежність виробництва. Нові екологічно чисті технології якості кінцевої продукції без застосування хімічних розчинників.
3. З наукових джерел відомо, що основними методами отримання α -амілази є мікробіологічний синтез, отримання з рослин, хімічний синтез та інші кожен з яких має певні переваги.
4. Огляд літератури дав уявлення про екологічну безпеку мікробіологічних методів, які дозволяють уникнути використання агресивних хімічних речовин.
5. В якості продуцента для отримання α -амілази, ми обираємо продуцента *B. subtilis*. Це обумовлено рядом причин:

Рід *Bacillus* включає в себе більше двохста видів, які широко розповсюджені по всьому світі. Цей рід широко використовується у промисловості для виробництва органічних кислоти, мікроелементів, вітамінів, ферментів [63]. Відомо, що бактерії роду *Bacillus* здатні до синтезу великої кількості корисних для людини продуктів, при тому не потребують якихось важких для створення умов культивування та не потребують проведення дороговартісних та довготривалих генних модифікацій. *B. subtilis* - є анаеробом, що дозволяє отримувати α -амілазу глибинним методом культивуванням. Цей метод культивування дозволяє змінювати склад ПС забезпечуючи максимальний вихід α -амілази, виключає важкий малопродуктивний ручну працю, спрощує механізацію і автоматизацію різних пристроїв, контролюючих параметри процесу в динаміці і є економічним доцільним ніж поверхневий метод [64].

B.subtilis має загально визнаний безпечний статус за системою GRAS і з ним легко проводити генетичні маніпуляції. Використання даного організму дозволяє отримувати рекомбінантний фермент в секретуємої формі, за рахунок цього знижуються витрати на виділення і очищення кінцевого продукту та висока термостабільність і стійкість в лужних середовищах. Так, на основі *B. Subtilis* було синтезовано α -амілазу у промислових масштабах.

РОЗДІЛ 2

ХАРАКТЕРИСТИКА *B. subtilis* В ЯКОСТІ ПРОДУЦЕНТА α -АМІЛАЗИ

2.1 Морфолого-культуральні та фізіологічні ознаки *B. subtilis*

B. subtilis – рід грампозитивних спороутворюючих факультативно аеробних ґрунтових бактерій. Назву «сінна паличка» вид отримав через те, що накопичувальні культури цього мікроорганізму отримують з сінного екстракту. Є продуцентом деяких поліпептидних антибіотиків, а також ферментів (амілази, протеази), одержуваних промислово [63]. Морфолого-культуральні ознаки *B. subtilis* наведені на рис.2.1 і рис.2.2

За Морфолого-культуральні ознаки агента *B. subtilis* :

- паличкоподібна бактерія, розмір $2-5 \times 0,4-0,6$ мкм.
 - спори утворюють овальні, що не перевищують розмір клітини
 - розташовані центрально.
 - забарвлюються по граму в синій колір - є грампозитивними.
 - перитрихіальне розташування джгутиків, рухлива.
 - колонії сухі, зморшкуваті, оксамитові, безбарвні або рожеві.
 - край колонії хвилястий.
 - розвивається при температурі (5–45) °С.
 - призводить до псування деяких харчових продуктів.
 - не відноситься до патогенних для людини мікроорганізмів.
 - може бути санітарно-гігієнічним показником забруднення мікроорганізмами харчових продукті [64].
- важливо зазначити, що *B. subtilis* є біологічним агентом у традиційному розумінні. Оскільки він є живим організмом, та може викликати інфекції.
- однак здатність *B. subtilis* продукувати ферменти може пригнічуватись , завдяки Ph , тиску , температурі та іншим факторам [65].

2.2 Поживні середовища для культивування *B.subtilis*

ПС-однокомпонентний або багатоконпонентний субстрат, що застосовується для культивування мікроорганізмів або культур клітин вищих організмів у лабораторних або промислових умовах [65,66].

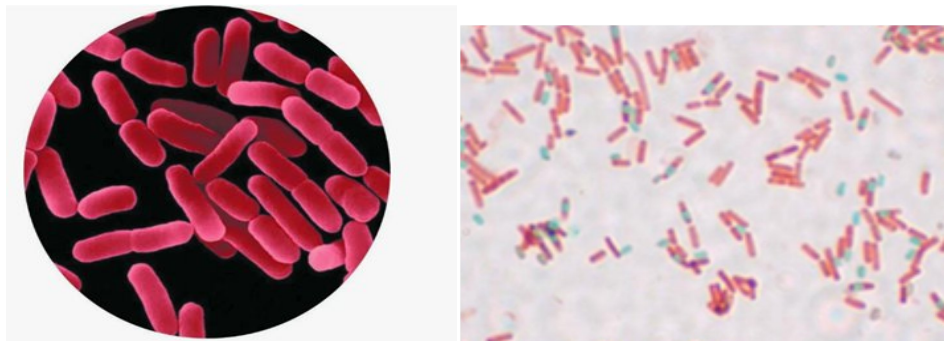


Рисунок 2.3 Морфологія *B.subtilis*



Рисунок 2.4 Колонії *B. subtilis* на суслі-агарі

Для вирощування *B.subtilis* можуть використовуватись середовища наступного складу:

1.МПБ на основі м'яса яловичого

Склад (г/дм³):

- пептон ферментативний – 10,0 г
- м'ясний екстракт – 11,0 ± 1 г
- натрію хлориду – 5,0 г
- вода – до 1,0 дм³

Являє собою прозорий розчин жовтого або світло-коричневого кольору. Товарний вигляд ПС МПБ зображено на рис.2.5. Ріст на МПБ виявляється через 18-24 години, оптимальна температура (5-45) °С, рН - 7,0-7,3. Максимальний

вихід α -амілази 3677 од/г, фермент очищали в 17 разів. Ціна за 0,25кг сухого ПС - 533,81грн [67,68].

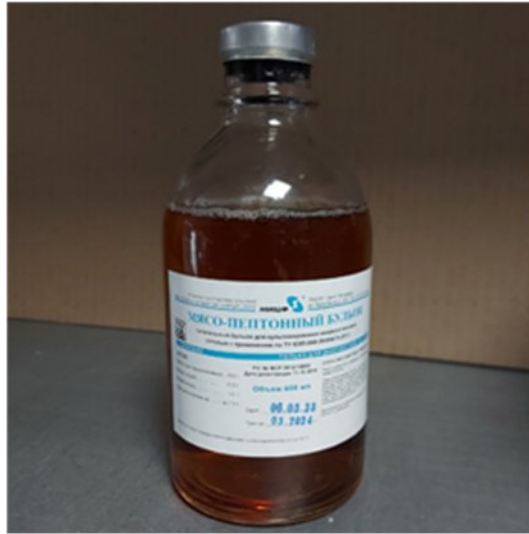


Рисунок 2.5 МПБ на основі м'яса яловичого

2. МПБ з додаванням 1% глюкози

Склад (г/дм³):

- пептон сухий ферментативний - 10,0 г;
- м'ясний екстракт - 11,0 ± 1,0 г;
- натрію хлорид - 5,0 г;
- глюкоза - 10,0 г;
- вода - до 1 дм³ [69].

Товарний вигляд ПС МПБ з додаванням 1% глюкози зображено на рис.2.6.

Ріст на МПБ виявляється через 18-20 години, оптимальна температура (37±1)°С, рН - 7,6. Максимальний вихід α -амілази 4577 од/г, фермент очистили в 20 разів. Ціна за 0,25кг сухого ПС - 359,10грн [67,68].

3. Середовище Чапека-Докса з крохмалем

Склад (г/дм³):

- NaNO₃ – 1г/ дм³ ;
- K₂HPO₄ – 1г/ дм³ ;
- KCl – 0,5г/ дм³ ;

- $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,5г/ дм³;
- $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,015г/ дм³;
- нерозчинний картопляний крохмаль -10г/ дм³ ;
- вода – до 1 дм³ [70].

Ріст на МПБ виявляється через 18-48 годин, оптимальна температура (30 ± 2) °С, рН - 6,8-7,0. Максимальний вихід α -амілази 1588 од/г, фермент очистили в 13 разів. Ціна за 0,25кг сухого ПС - 560 грн [71,72].



Рисунок 2.6 МПБ з додаванням 1% глюкози

4. До ПС входить такий склад (у %):

- $(\text{NH}_4)_2 \text{HPO}_4$ - 0.8;
- K_2HPO_4 -0.1;
- KNO_3 -0.11;
- кукурудзяний екстракт - 1.

Середовище стерилізують для видалення сторонньої мікрофлори за температури 121 °С протягом 1 години . Температура культивування для бактерій (32-35)° С. Режим аерації: 50-60 м³/год м³ Максимальний вихід альфа-амілази 1008 од/г, фермент очистили в 11 разів. Ціна за 0,25кг сухого ПС - 440 грн [73].

Висновок : В якості ПС для культивування *B.subtilis* , ми обираємо ПС МПБ з додаванням 1% глюкози. Це середовище відноситься до

напівсинтетичного ПС і має ряд переваг перед іншими середовищами. Склад ПС у % наведен у табл. 2.1

Хороші ростові властивості. За рахунок того ,що у середовище додатково додали глюкози , яка гарантує *B.subtilis* активне розмноження [74].

Економічна доцільність. Проаналізувавши вище зазначені ПС ми бачимо, що більш економічно доцільним є ПС МПБ з додаванням 1% глюкози.

Чистота: проаналізувавши вище зазначені дані ми бачимо , що більш чисту α -амілазу ми отримуємо з ПС МПБ з додаванням 1% глюкози.

Кількість α -амілази :серед перелічених ПС найбільшу кількість α -амілази нам дає ПС МПБ з додаванням 1% глюкози

Таблиця 2.2 Склад ПС для культивування *B.subtilis* г/дм³ у %

Компонент ПС	%
пептон сухий ферментативний	0,1
м'ясний екстракт	0,11±0,01
натрію хлорид	0,05
Глюкоза	0,1
Вода	99,64-99,65

2.3 Методи отримання α -амілази

Існує декілько способів отримання фермента α -амілаза – хімічний , мікробіологічний , з рослин та тварин .

Хімічний метод отримання ферментів передбачає іммобілізацію ферментів шляхом утворення нових ковалентних зв'язків між ферментом і носієм. Цей метод іммобілізації забезпечують міцний і необоротний зв'язок ферменту з носієм і супроводжуються стабілізацією молекули ферменту. Однак розташування ферменту щодо носія на відстані одного ковалентного зв'язку створює труднощі у здійсненні каталітичного процесу. Ферменти відокремлюють від носія за допомогою вставки (зшивання або спейсер), у ролі

якої найчастіше виступають поліфункціональні агенти бромціан, гідразин, глутаровий діальдегід. У цьому випадку структура іммобілізованого ферменту включає носій, вставку і фермент, з'єднані між собою ковалентними зв'язками [75].

Хімічний метод - вкрай дорогий і не дуже ефективний у промислових масштабах.

Мікробіологічний метод - більш перспективний і дає змогу отримати практично всі можливі ферменти. Ферменти в мікробних клітинах локалізуються як внутрішньоклітинно, так і можуть виділятися в навколишнє середовище, що частіше використовується в промисловості, оскільки одержуваний продукт має більшу чистоту.

Позаклітинні ферменти отримують із культуральної рідини, попередньо відокремленої від мікроорганізмів. Для виділення внутрішньоклітинних ферментів руйнують клітинні оболонки за допомогою механічних, фізичних, хімічних (дія кислот, розчинників), ферментативних і біологічних методів.

Плюси мікробіологічного способу отримання ферментів:

- 1) Економічна доцільність ;
- 2) можливість управління процесу ферментації і виробленої α -амілази ;
- 3) висока швидкість отримання цільового продукту, висока чистота ферменту α -амілази [76].

Мікробіологічний метод : Виробництво ферментного препарату здійснюється двома способами-поверхневим і глибинним. Поверхневий спосіб в основному застосовується для культивування мікроскопічних грибів. В його основі вирощування мікроорганізмів на твердих (рідше рідких), ПС ;

При глибинному культивуванні мікроорганізми вирощують в товщі рідких ПС. У цих умовах можна культивувати як аеробні, так і анаеробні мікроорганізми [77].

Отримання α -амілази глибинним методом культивуванням

Для отримання амілолітичних ферментних препаратів переважно використовують глибинний спосіб культивування.

Продуцентами за такого способу культивування є: мікроскопічні гриби роду *Aspergillus* (*A. Oryzae*, *A. Ussamii*, *A. Batatae*), спороносні бактерії, роду *B.subtilis*, *Endomucopsis*, *Endomyces* і багато інших мікроорганізмів[73].

Приготування ПС включає в себе складання компонентів для росту біомаси і накопичення ферментів. Температура культивування для бактерій (32-35)° С. Режим аерації: 50-60 м³/год м³.

Ферментація - це комплекс процесів, до якого входять ріст і розвиток клітин, біосинтез ферментів, тепловиділення, транспорт метаболітів у культуральну рідину. Початковий рН ПС 6,5-7,0 підтримують на оптимальному рівні за допомогою крейди. Процес протікає за температури (35±1) °С і тривалість ферментації становить 55-60 год. На ріст і розвиток клітин впливає концентрація поживних речовин у субстраті.

Випарювання - процес концентрування розчинів шляхом часткового випаровування рідкого розчинника.

Сепарування - розділення під дією відцентрових сил. В потоці, що обертається, на зважену частинку діє відцентрова сила, що спрямовує її від центру до периферії.

Утворений осад баластних речовин видаляється з культуральної рідини, а очищена рідина піддається осадженню.

Сушіння - видалення вологи з твердих і пастоподібних матеріалів шляхом її випаровування і відведенням утворених парів. Придавання нашому ферменту товарного виду (порошок)

Пакування та фасування готового продукту [73].

Отримання α -амілази поверхневим методом культивуванням

Культивування здійснюється за (36-37) °С, вологість готової культури - 36-50%.

Процес очищення починається з екстрагування ферменту водою при температурі (20-25)°С. Для зменшення обсіменіння мікроорганізмами екстракт обробляють розчинами електrolітів.

Ферменти з екстракту осаджують органічними розчинниками: етанолом (концентрація в розчині 69-72 %), ацетоном (60-62 %), ізопропанолом (54-55 %). При цьому α -амілаза випадає в осад практично повністю (93-96 %). Далі всі ці препарати є вихідним матеріалом для отримання кристалічної α -амілази .

Препарат зі ступенем очищення 3х розчиняють у воді очищеній.

Суспензію після розчинення залишають при температурі (3-5)°C на кілька хвилин і центрифугують. Отриманий розчин направляють на стадію звільнення від сторонніх ферментів. Використовують оксалати, фосфати, сульфат кальцію, барію, ацетат свинцю. Утворений забарвлений осад видаляють, а освітлений розчин надходить на стадію осадження цільового ферменту сульфатом амонію.

Перед стабілізацією до розчину додають 0,25н ацетат кальцію і 0,25н розчин NaOH для доведення рН до 7.

Додавання сульфату амонію відбувається поступово для попередження різкого локального підвищення концентрації солі.

Утворюється пухкий осад, що містить в основному цільовий фермент. Для звільнення від солі осад розчиняють, здійснюють діаліз або ультрафільтрацію[78].

Отримання α -амілази з рослин : фермент, який виявлено в рослинах, наприклад у пророслому зерні пшениці, жита, ячменю та вівса і т.д.

Зерно злаків багате запасними речовинами, які використовуються в метаболізмі під час проростання зерна. Перетворення крохмалю, крохмальних полісахаридів, білка, ліпідів починається з їх гідролітичного розщеплення. Продукти розщеплення використовуються в циклах дихання та біосинтезу структурних елементів рослини. Значна частина гідролітичних ферментів перебувають у неактивному стані. Активність вільних форм гідролаз не проявляється через відсутність вільної води, необхідної для протікання реакцій гідролізу.

У зерні є інгібітори протеолітичних ферментів і α -амілази. За відповідної температури та вологості зерно набухає і проростає. Процес проростання супроводжується збільшенням активності α -амілази. Під дією протеаз

активуються зв'язані форми ферментів. Паралельно відбувається новоутворення ферментів [79].

Технологія солоду забезпечує отримання максимальної активності α -амілази за мінімальних витрат маси зерна на дихання. З біомаси культури рослинних клітин шляхом екстракції, центрифугування, гель-фільтрації виділяють стабільний комплексний ферментний препарат. Причому екстракцію проводять водно-спиртовим розчином з подальшою гель-фільтрацією dealкоголізованого екстракту з добором найбільш активних фракцій. Проводять диалкоголізацію розчинної фракції до повної відсутності спирту в пробі. Отримані фракції об'єднують і ліофілізують. Ліофілізований препарат оцінюють за біологічною активністю, вмістом білка і чистотою. Після цього препарату надають товарний вигляд (порошок, гранули, капсули тощо) [80]. Активність ферментів у процесі проростання змінюється залежно від вологості зерна, температури середовища, тривалості вирощування, способу аерації. Оптимальні режими солодоращення для різних культур різні (табл. 1.3). При отриманні сухого солоду його активність залежить від способу сушіння.

Фермент активно синтезується в процесі проростання, який утворюється в паростку. Оптимальні умови дії ферменту: рН 5,6-5,8, температура (60-65) °С. У заторах температурний оптимум підвищується до (70-75) °С, а межа термостабільності - до (80±1) °С, що пов'язано зі стабілізуючою дією високих концентрацій крохмалю в заторах. Фермент α -амілаза солоду активується іонами кальцію і хлору, інгібується іонами заліза, хрому, міді. У разі тривалого гідролізу крохмалю солодовою α -амілазою отримують суміш цукрів, що складається на 87 % із мальтози і на 13 % - з глюкози [79].

Отримання α -амілази з тваринної сировини. У промислових умовах при переробці м'яса різних тварин у найперший момент оброблення туші збирають ферментну сировину (підшлункова залоза, слинні залози, слизова оболонка шлунків і тонкого кишківника великої рогатої худоби та овець). Свіжовідібрані органи і тканини тварин, що містять α -амілазу, дуже нестійкі при зберіганні. Тому після збору сировину слід негайно переробити або законсервувати за

допомогою низьких температур, обробки кухонною сіллю, ацетоном, етиловим спиртом або ж висушуванням. Для отримання технічних препаратів допускається консервування тваринної сировини кухонною сіллю. Із заготовленої на м'ясокомбінатах тваринної сировини на спеціальних заводах органопрепаратів отримують α -амілазу різного ступеня очищення. Процес отримання їх складається з низки послідовних операцій: подрібнення сировини, екстракція ферментів, відсмоктування, відділення білкових осадів від рідкої фази, очищення, кристалізація і сушіння препаратів. Залежно від виду сировини, що використовується, застосовують різні методи подрібнення і руйнування клітин. До них відносять: поперемінне заморожування і відтавання, автоліз, обробку дубильними речовинами, органічними розчинниками тощо. Клітинні оболонки і тканини, що містять велику кількість вологи, можна зруйнувати механічним подрібненням і пресуванням.

Таблиця 2.3 Оптимальні режими солодощення різних культур

Культура	Температура °C	Вологість зерна %	тривалість пророщування, доба
Ячмінь дворядний	13-15	46	7
Ячмінь шестирядний	17-19	47-48	6
Жито	18-20	48-50	3
Пшениця	16-18	46-48	3-4
Овес	15-18	42-43	5-6
Кукурудза	18-20	46-48	5

Нині використовують механічне подрібнення сировини на спеціальних м'ясорубках, дзигах, кутерах і машинах, на яких можна отримати найтонші зрізи із замороженої сировини (мікротоми).

Вилучення α -амілази з подрібненої тваринної тканини можна проводити трьома видами екстрагентів: водним розчином кислот за рН 1,0-2,0; водою або водними розчинами солей за рН 7,0-8,0; концентрованим водним розчином органічних розчинників (етанол, метанол, ацетон, гліцерин).

Екстракцію проводять поступово, 2-3 рази заливаючи оброблювану сировину екстрагентом. Для кращого вилучення α -амілази всю масу в процесі екстракції перемішують. Після кожного настоювання оброблюваної сировини екстрагент відокремлюють центрифугуванням. Якщо α -амілаза, що виділяється, дуже нестабільна, то замість центрифугування використовують фільтрацію під вакуумом.

Методи виділення та очищення α -амілази з екстрактів тваринних тканин незначно відрізняються від отримання ферментних препаратів із культур мікроорганізмів. Їх виділяють осадженням органічними розчинниками (етанол, метанол, ізопропанол, ацетон, хлороформ тощо), солями (сульфат амонію, натрію або магнію, ацетат натрію, хлорид натрію). Надалі для повнішого очищення використовують діаліз, ультрафільтрацію, адсорбцію[81].

ВИСНОВОК ДО РОЗДІЛУ 2

В якості ПС для культивування *B.subtilis* , ми обираємо ПС МПБ з додаванням 1% глюкози. Це середовище відноситься до напівсинтетичного ПС і має ряд переваг перед іншими середовищами.

Хороші ростові властивості. За рахунок того ,що у середовище додатково додали глюкози , яка гарантує *B.subtilis* активне розмноження [74].

Економічна доцільність. Проаналізувавши вище зазначені ПС ми бачимо, що більш економічно доцільним є ПС МПБ з додаванням 1% глюкози.

Чистота: проаналізувавши вище зазначені дані ми бачимо , що більш чисту α -амілазу ми отримуємо з ПС МПБ з додаванням 1% глюкози.

Кількість α -амілази :серед перелічених ПС найбільшу кількість α -амілази нам дає ПС МПБ з додаванням 1% глюкози

Проаналізувавши вище зазначенні методи отримання α -амілази, ми обираємо мікробіологічний метод. Тому ,що він має ряд переваг перед іншими методами : він більш економічно-доцільний , можливість управління процесу ферментації і складом виробленої α -амілази , висока швидкість отримання цільового продукту ,висока чистота ферменту α -амілази . Проаналізувавши методи отримання α -амілази при мікробіологічному синтезі, ми обираємо глибинний метод культивування тому ,що він має ряд переваг перед поверхневим методом культивування : дозволяє змінювати склад живильного середовища, забезпечуючи максимальний вихід α – амілази , виключає важкий малопродуктивний ручну працю, спрощує механізацію і автоматизацію різних пристроїв, контролюючих параметри процесу в динаміці і є економічним доцільним ніж поверхневий метод .

РОЗДІЛ 3

АНАЛІЗ ФЕРМЕНТНОГО РИНКУ УКРАЇНИ

Сучасний розвиток багатьох галузей промисловості і сільського господарства не можливий без використання ферментних препаратів. Виробництво ферментних препаратів займає одне з провідних місць у сучасній біотехнології і належить до галузей, обсяг продукції яких постійно зростає, а сфера застосування розширюється. Згідно з дослідженнями Abercade Consulting, глобальний ринок ферментних препаратів щорічно збільшується в середньому на 10 %, європейський ринок — приблизно на 3,5 %. Ринок ферментів для харчової індустрії в Європі щорічно зростає на 8 % [82].

Загальною тенденцією для України є те, що сучасні потреби промисловості у α -амілази більш ніж на 90 % задовольняються за рахунок імпорту. На частку українських виробників припадає менше 10 %. При цьому впродовж останніх років внутрішнє виробництво демонструє тенденцію до скорочення виробництва α -амілази, що зумовлено значною конкуренцією з боку зарубіжних фірм, які пропонують широкий асортимент високоякісної продукції [83].

В експрес-аналізі зовнішньоекономічної діяльності на ринку ферментних препаратів, представленому Агентством промислових новин, підтверджується, що цей сектор є імпортозалежним. Загалом в останні роки експорт ферментних препаратів з України становить суму в 52 рази нижчу за суму імпорту. Це відбувається на фоні зниження конкурентоспроможності продукції українських підприємств у секторі виробництва промислових ферментів на зовнішньому ринку [84].

Компанії — виробників ферменту α -амілази, які імпортують продукцію до України :

1. Novozymes A/S (Данія) — компанія-лідер світового ринку ферментів. За оцінками самої компанії, її частка на світовому ринку становить 47 %. Основним дистриб'ютором в Україні є ТОВ “Бі-А-Хім” (м. Київ). У структурі пропозицій компанії на українському ринку домінують α -амілази для виробництва мийних засобів [85].

2. Danisco A/S (Данія) — компанія є другою за обсягами продажу ферментів на світовому ринку (21 %). Теж має своє представництво в Україні — це ТОВ “Біовак” Україна, яке є офіційним представником компанії Biochem, яка своєю чергою і є офіційним представником продукції компанії Danisco A/S та безпосередньо її підрозділу компанії Danisco Animal Nutrition — світового лідера з виробництва α -амілази для комбікормової промисловості [86].

3. Shandong Longda Bio-Products КСo (Китай) — компанія спеціалізується на виробництві α -амілази для промислового використання. На український ринок постачає α -амілази для спиртової промисловості, власного представництва в Україні не має [87].

4. Framelco B.V. (Нідерланди) — компанія, що спеціалізується на виробництві α -амілази для кормових добавок. Офіційним імпортером Framelco B.V. в Україні є компанія Вудгофф [88, 89].

На сьогодні в Україні єдиним великим біотехнологічним підприємством залишається Ладжинський завод біо- та ферментних препаратів “Ензим”, а також діють кілька дрібних виробників [90]. Користуючись даними дослідницької компанії Abercade, стан ринку α -амілази можна охарактеризувати передусім їх застосуванням у таких галузях, як харчова промисловість та виробництво СМЗ, і досить динамічним розвитком у секторі ферментних препаратів для сільського господарства [91].

У харчовій промисловості виробництво спирту і пива є основним напрямом використання α -амілази і становить 78-81 % від загального обсягу використання α -амілази у харчовій промисловості. Другою за значимою сферою використання α -амілази є хлібопечення. Частка цього сегменту становить 8-15 % від загального обсягу використання α -амілази у харчовій промисловості. Споживання α -амілази у крохмалепатоківій промисловості. Частка цієї групи зросла з 3 до 6 %. У молочній промисловості використовується близько 2 % від загального обсягу α -амілази у харчовій промисловості.

На переробку фруктів, у т.ч. на α -амілазу, припадає 2-3 % використання α -амілази. Для кондитерських продуктів використовується близько α -амілази 1 % від загального обсягу споживання α -амілази у харчовій промисловості .

Для повного покритті потреби α -амілази для України потрібно близько 54000 товарних тонн на рік , а Ладизинський завод біо- та ферментних препаратів “Ензим” виробляє тільки до 6000 товарних тонн α -амілази на рік. Для харчової промисловості потрібно близько 42120–43740 товарних тонн α -амілази на рік . Виготовлення α -амілази в Україні покриває птребу населення тільки на 10% [83, 92, 93].

Українські виробники α -амілази

Ладизинський завод біо- та ферментних препаратів “Ензим” (Вінницька обл., м. Ладизин). Є єдиним великим біотехнологічним підприємством в Україні здатним випускати до 6000 товарних тонн α -амілази на рік, і спеціалізується на виробництві технічних ферментних препаратів. Ферментні препарати цього виробника використовуються в багатьох галузях народного господарства: в харчовій промисловості (виробництво борошняних кондитерських виробів, хлібопекарна, спиртова, виноробна, пивоварна, крохмале-патокова, плодоовочева, сироробна промисловість), у целюлозно-паперовій промисловості, в легкій промисловості (виробництво натуральних шкір), у хімічній промисловості (виробництво СМЗ), у сільському господарстві (птахівництво, тваринництво та рибництво [93].

ТОВ “Дніпровська асоціація-К” (м. Київ). Підприємство створене в 2004 р. Напрями роботи підприємства — науково-виробнича діяльність, зокрема синтез і виробництво ферментних препаратів , α -амілази і їх модифікацій, атестація препаратів для застосування в Україні та інших країнах, розроблення і впровадження проектів і технологій застосування ферментних препаратів [94].

Окремі спиртові заводи України для власних потреб і на продаж виробляють самі α -амілазу. Це, зокрема, ДП “Артемівський спиртзавод” (Харківська обл., м. Мерефа) — державне підприємство, що має унікальний цех для одержання α -амілази і забезпечує власне виробництво [95].

ВИСНОВОК ДО РОЗДІЛУ 3

Загальною тенденцією для України є те, що сучасні потреби промисловості у α -амілази більш ніж на 90 % задовольняються за рахунок імпорту. На частку українських виробників припадає менше 10 %. При цьому впродовж останніх років внутрішнє виробництво демонструє тенденцію до скорочення виробництва α -амілази, що зумовлено значною конкуренцією з боку зарубіжних фірм, які пропонують широкий асортимент високоякісної продукції .

У харчовій промисловості виробництво спирту і пива є основним напрямом використання α -амілази і становить 78-81 % від загального обсягу використання α -амілази у харчовій промисловості. Другою за значимою сферою використання α -амілази є хлібопечення. Частка цього сегменту становить 8-15 % від загального обсягу використання α -амілази у харчовій промисловості. Споживання α -амілази у крохмалепатоківій промисловості. Частка цієї групи зросла з 3 до 6 %. У молочній промисловості використовується близько 2 % від загального обсягу α -амілази у харчовій промисловості.

Ладизинський завод біо- та ферментних препаратів “Ензим” (Вінницька обл., м. Ладизин). Є єдиним великим біотехнологічним підприємством в Україні здатним випускати до 6000 товарних тонн α -амілази на рік, і спеціалізується на виробництві технічних ферментних препаратів.

Проаналізувавши попередній матеріал , ми можемо зробити висновки , що. Для повного покриття потреби високотемпературної α -амілази для України , нам не вистачає 48000 товарних тон на рік. При такої нестачі α -амілази, ми пропонуємо збільшити обсяг виробництва високотемпературна α -амілази на 20000 товарних тон на рік , шляхом удосконаленні лінії виробництва α -амілази на Ладизинському заводі біо- та ферментних препаратів “Ензим” .

РОЗДІЛ 4

БІОХІМІЧНІ ПРОЦЕСИ ОТРИМАННЯ α -АМІЛАЗИ ПРОДУЦЕНТОМ

B.subtilis.

Щоб бути здатним виконувати свої біологічні функції, кожен білок приймає одну або більше конформацій, що утворюються за допомогою нековалентних взаємодій, таких як водневі зв'язки, іонні, ван-дер-ваальсівські та гідрофобні взаємодії. Так як α -амілаза має білкову природу, то вищі структури білків є основою формування особливих структури та властивостей ферментів.

Первинна структура – послідовність амінокислотних залишків з'єднаних між собою пептидними зв'язками. Важливими особливостями первинної структури є консервативні мотиви. Консервативні мотиви первинної структури білка-стійкі поєднання амінокислотних залишків, що виконують певну функцію і зустрічаються в багатьох білках.

Ці консервативні залишки визначають положення точок згину поліпептидного ланцюга, а також інші істотно важливі особливості конформації, зокрема активні центри ферментів, зони зв'язування інших біологічних молекул, ефекторні центри білків і т. д..

Консервативні мотиви зберігаються в процесі еволюції видів, по ним часто вдається передбачити функцію невідомого білка.

Також існує консервативна заміна в первинній структурі білка: амінокислоти можуть замінювати один одного в послідовності, при цьому властивості білка не сильно змінюються, якщо амінокислотні молекули схожі за будовою.

Вторинна структура – Вторинна структура білків-це просторове розташування поліпептидного ланцюга білкової молекули на окремих її ділянках у вигляді спіралі або шару (листа). Основним типом зв'язку, що формує вторинну структуру білка, є водневий зв'язок.

Існує два типи вторинної структури білка:

α -спіраль. Виникає за рахунок водневих зв'язків в межах однієї поліпептидного ланцюга. Водневі зв'язки утворюються між карбонільним атомом кисню кожного

першого і атомом водню аміногрупи кожного п'ятого амінокислотного залишку і утримують поліпептидний ланцюг в закрученому стані.

β -структура. Формується за допомогою водневих зв'язків в межах окремих ділянок одного поліпептидного ланцюга або між рядом паралельних поліпептидних ланцюгів (структура складчастого листа). α -спіраль характерна для глобулярних білків, а β -структура — для фібрилярних білків .

Третинна структура – зумовлена здатністю поліпептидної спіралі закручуватись в глобулу. У стабілізації третинної структури білка беруть участь:

ковалентний зв'язок , іонні зв'язки (між протилежно зарядженими бічними групами амінокислотних залишків) , водневі зв'язки , гідрофільн–о-гідрофобні взаємодії.

Четвертинна структура – спосіб укладання в просторі окремих поліпептидних ланцюгів, що володіють однаковою (або різною) первинною , вторинною або третинною структурою і функціональному відношеннях макромолекулярного утворення. Специфічність четвертинної структури білків проявляється в певній конформаційній автономії поліпептидних фрагментів, що входять до складу макромолекули білка.

Глобулярні білки – складні протеїни, молекулах яких поліпептидні ланцюги щільно згорнуті в компактні кулясті структури. Ферменти являють собою глобулярні білки.

Процес синтезу α -амілази в клітині *B.subtilis*.

Функції α -амілази визначаються ще на генетичному рівні. Оскільки α -амілаза– білок, то і її синтез в точності повторює процеси транскрипції і трансляції. Синтез α -амілази відбувається за наступною схемою.

Спочатку з ДНК зчитується інформація про потрібний фермент (α -амілаза) та його кількість, в результаті чого утворюється мРНК. Синтезовані ланцюги РНК комплементарні одному з ланцюгів ДНК . Процес такого копіювання гена,

здійснюваний ферментом РНК-полімеразою, отримав назву транскрипції . Матрична РНК кодує всі амінокислоти, які входять в склад α -амілази (тирозин, аспарагінова кислота та глютамін тощо . Загальне число амінокислот в активних центрах α -амілази 67).Регуляція ферментів може відбуватися і на рівні ДНК: якщо амінокислот які потрібні для синтезу α -амілази каталізується достатньо, транскрипція гена припиняється і навпаки, якщо кількість амінокислот мала ,то процес транскрипції продовжується до тих пір поки не виробиться необхідної кількості амінокислот . Після того як мРНК вийшла в цитоплазму клітини, починається наступний етап – трансляція. Однак вільні амінокислоти не використовуються рибосоמוю. Для того щоб служити субстратом для рибосоми, амінокислота повинна бути активована за участю сполученого розщеплення АТФ і ковалентно приєднана тРНК, за допомогою ферменту аміноацил-тРНК-синтетази. Отримані аміноацил-тРНК надходять у рибосому як субстрат для синтезу α -амілази . Крім того, енергія хімічного зв'язку між амінокислотним залишком і тРНК використовується для реакції утворення пептидного зв'язку в рибосомі. Таким чином, активація амінокислот і утворення-аміноацил-тРНК забезпечують потік як матеріалу, так і енергії для рибосомного синтезу α -амілази. На рибосомах ендоплазматичної мережі синтезується первинний ланцюжок, що складається з амінокислот, сполучених пептидними зв'язками. Однак молекула білка в первинній структурі ще не може виконувати свої ферментативні функції. На тій же ЕПС відбувається скручування протеїну, в результаті чого утворюються спочатку вторинна, третинна, а потім четвертинної структури. Приєднання коферменту і кофактора. Схема біосинтезу α -амілази представлена на рис. 4.1 та рис. 4.2 [100] .

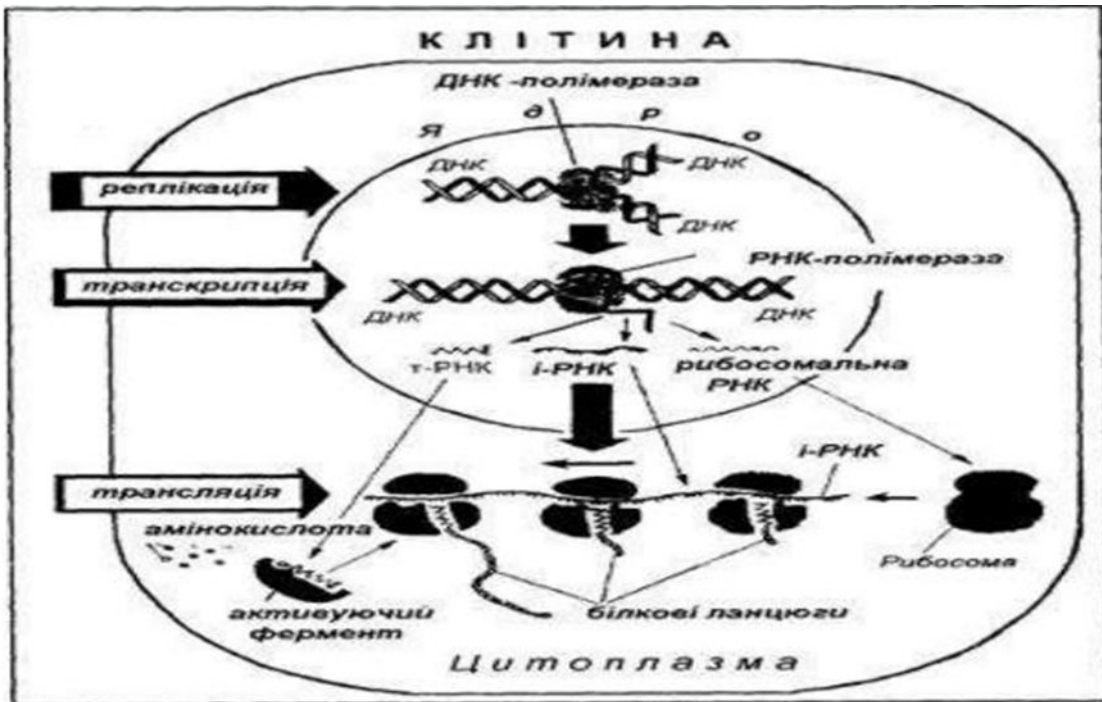


Рисунок 4.1 Схема синтезу білкової молекули в клітині *B.subtilis*

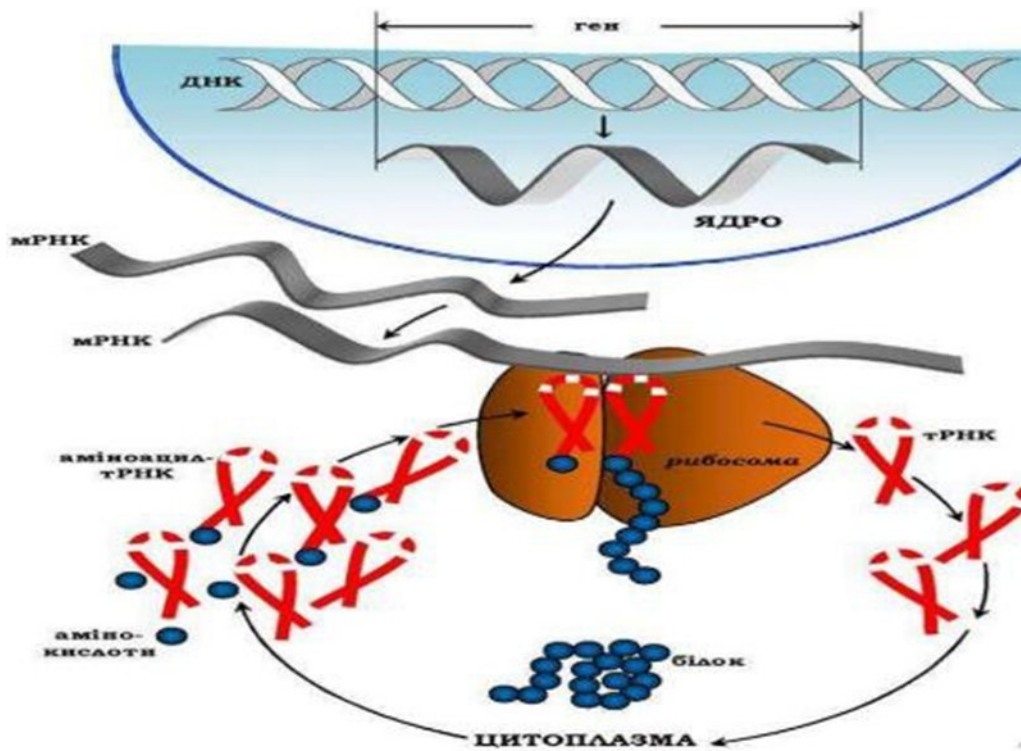


Рисунок 4.2 Схема синтезу α -амілази на рибосомах

РОЗДІЛ 5

ПОЕТАПНА ТЕХНОЛОГІЧНА СХЕМА

ОТРИМАННЯ α -АМІЛАЗИ ПРОДУЦЕНТОМ *B.subtilis*.

Будь яка схем складається з стадій , кожна з яких протікає за своїми параметрами тому і впливає на сировину та підготовка повітря, посівного матеріала ,попередню обробку сировини , підготовка обладнання та комунікацій , приготування дезенікуючих засобів, приготування ПС) , має свої технологічні умови протікання (температура , тиск , pH і т.д.) і мають свою послідовність . За рахунок всього цього сировина поступово перетворюється на півпродукти і на решті в кінцевий продукт.

ДР1. Санітарна підготовка виробництва .

ДР1.1 Санітарна підготовка персоналу.

Даний етап включає в себе навчання і періодичну перевірку знань персоналу, а також забезпечення його санітарного і гігієнічного стану.

ДР1.1.1 Навчання персоналу і періодична перевірка знань.

Кожен працівник перед початком роботи проходить навчання, інструктаж з техніки безпеки, зокрема з пожежної безпеки, охорони праці. Також періодично проводиться перепідготовка робітників вже безпосередньо в процесі роботи на підприємстві.

Працівники зобов'язані виконувати наступні вимоги:

1.Кожен член робочого персоналу повинен проходити попереднє та періодичне медичне та бактеріологічне обстеження;

2.Кожен працівник зобов'язаний дотримуватись правил особистої гігієни, а саме мити голову мінімум 1 – 2 рази на тиждень, не носити бороду, або, в якості виключення надягати на неї спеціальну захисну шапочку;

3.Робітники зобов'язані працювати лише в спеціальному, регламентованому для цього, технологічному одязі;

4.Працівники зобов'язані повідомляти роботодавця про кожне захворювання(порізи, нариви, шкіряні, застудні захворювання).У санітарному журналі кожного разу повинен бути відповідний запис.

5. На виробництві заборонено носіння ювелірних виробів та інших прикрас, ручих годинників, а також заборонено користуватися косметикою;

6. Заборонено піднімати і продовжувати використання предметів, що впали на підлогу, в процесі роботи, не обробивши їх попередньо належним чином;

7. Якщо при профілактичному огляді у працівників виявлено грибкові або гнійні захворювання шкіри, заборонено допускати таких працівників до роботи;

8. Вхід та вихід у межах чистих приміщень суворо обмежений.

Працівники чистих приміщень обов'язково повинні бути ознайомлені з правилами поведінки у приміщеннях відповідного класу чистоти. Інструктаж повинен проводитися не рідше одного разу на рік, запис про кожен інструктаж обов'язково повинен бути у відповідному журналі. Обов'язково проводиться перевірка знань. Працівники, що не пройшли навчання, не можуть знаходитись у виробничих зонах.

ДР 1.1.2 Забезпечення належного санітарного стану персоналу

Згідно з законом України про охорону праці, працівники зобов'язані раз на рік проходити медичне обстеження на підприємстві. При виявленні ухилень від норми працівники до роботи не допускаються. Працювати можна лише в спеціальному, призначеному для цього одязі.

Контроль мікробної забрудненості рук проводять один раз на тиждень у кількох робітників одного цеху вибірково, та раз на два тижні після обробки рук дезінфікуючими засобами. В нормі, після обробки рук дезрозчинами, на руках повинні бути відсутні мікроорганізми. В процесі роботи допустима наявність не більше десяти колоній неспороутворюючих мікроорганізмів на двох різних чашках Петрі.

ДР 1.2 Приготування дезінфікуючих розчинів

Даний етап включає такі стадії, як приготування розчину миючого засобу, приготування 76% розчину спирту, 6% розчину перекису водню та 3% розчин хлорного вапна.

Приготування здійснюється згідно з МУ-64-11-100, із дотриманням відповідних норм техніки безпеки.

Вибір засобів обумовлюється їх ефективністю, безпечністю для людини. Миючі та дезінфікуючі засоби мають бути стерильними [41].

ДР 1.2.1 Приготування розчину миючого засобу

Приготування відбувається у реакторі – змішувачі, куди через дозатор подається миючий засіб «Сульфонол» у кількості 100 см³, та доводиться до об'єму 10 дм³ очищеною водою. Далі інтенсивно перемішують.

ДР 1.2.2 Приготування розчину пероксиду водню 6%

Приготування відбувається у реакторі – змішувачі, куди через дозатор подається 33% перекис водню, який розводиться до 6% концентрації необхідним об'ємом очищеної води. Термін зберігання – 5-6 діб.

ДР 1.2.3 Приготування розчину спирту 70%

Приготування відбувається у стерильному реакторі – змішувачі, куди через дозатор подають 96% етиловий спирт і розводять його очищеною водою до концентрації 70%. Спирт застосовують для санітарної обробки рук персоналу та дезінфекції вузлів обладнання.

ДР 1.2.4 Приготування 3% розчину хлорного вапна

Приготування відбувається у стерильному реакторі – змішувачі, куди через дозатор подають суміш гіпохлориту кальцію, хлориду кальцію та гідроксиду кальцію і розводять його очищеною водою до концентрації 3%. Використовують згідно ДСТУ 1692-85 марки А і Б, концентрацією 3% при умовах наявності у розчині активності хлору залежно від марки 32-35%.

При виборі дезінфікуючого розчину, ми враховуємо не тільки його бактерицидні властивості, а й токсичність в першу чергу для людини і тварин.

Дана стадія включає в себе щоденне та генеральне прибирання.

ДР 1.3 Підготовка виробничих приміщень

На початку і в кінці виробничого процесу, приміщення миють з миючими та дезінфікуючими розчинами. Обробка поверхонь проводиться досить ретельно, із приділенням особливої уваги підлозі та стінам, що знаходяться у контакті з обладнанням.

Перед початком робіт, що пов'язані із відновленням музейної культури, у лабораторних приміщеннях необхідно провести прибирання із використанням миючих і дезінфікуючих засобів. Перед пересіванням музейної культури лабораторне приміщення додатково оброблюють УФ-випроміненням.

ДР 1.3.2 Генеральне прибирання

Генеральне прибирання проводиться раз на тиждень. Стіни, двері, робочі поверхні приміщень обробляють 3% розчином перекису водню, приміщення закривають на 30-40 хвилин, після чого надлишок розчину видаляється поролоновою губкою.

У виробничих приміщеннях миють підлогу із 0,1% розчином мийного засобу у розрахунку 100 мл/м² поверхні підлоги.

Після закінчення вологого прибирання чисті приміщення звільнюють від персоналу та вмикають бактерицидні лампи на 2 години. Потім, не менш ніж за 30 хвилин до роботи вмикають проточну, а потім витяжну вентиляцію.

ДР1.4 Підготовка виробничого одягу

Даний етап включає в себе прання, ополіскування, сушіння, пакування та стерилізацію одягу. Комплект одягу є одноразовим, або використовується лише протягом однієї зміни, після чого передається на обробку .

ДР 1.5 Підготовка обладнання та комунікацій

Даний пункт включає в себе миття та ополіскування обладнання і комунікацій із подальшою їх стерилізацією. Комплекс робіт направлений на забезпечення чистоти та стерильності виробничого обладнання з метою надання належної якості продукції. На даному етапі проводиться контроль мікробіологічної контамінації.

ДР 1.5.1 Миття обладнання та комунікацій

На даному етапі робітники повинні бути одягнені у спецодяг, гумові рукавички і марлеву пов'язку.

Миття вузлів обладнання проводиться синтетичними мийними засобами, з подальшою обробкою дезінфекторами при температурі +50-60°C. Частина

обладнання, які знаходяться у контакті з препаратом, знімають і ретельно миють при температурі (50-60)°С.

Дезінфекція проводиться із використанням спирту етилового 70%. Зовнішні поверхні обладнання оброблюються таким же чином, як і виробничі приміщення. Для оптимізації процесу дозволяється поєднання процесу миття та дезінфекції обладнання.

ДР 1.5.2 Ополіскування

Після миття і обробки внутрішніх поверхонь і комунікацій, їх ополіскують кілька разів, використовуючи очищену воду. Те ж саме проводять і з частинами обладнання, що знімаються. Після ополіскування обов'язкове проведення контролю якості миття.

ДР 1.5.3 Стерилізація обладнання та комунікацій

Стерилізація відбувається з використанням насиченої пари під тиском, вводиться безпосередньо у апарат. Температура стерилізації – (140±1)°С, тиск – 0,15МПа, тривалість – дві години. Ефективність стерилізації обов'язково перевіряється із використанням мікробіологічного контролю.

ДР 2 Підготовка стерильного повітря

Згідно GMP виділяють чотири класи чистоти для виробництва стерильної продукції, а саме А, В, С, D, у порядку зменшення їх стерильності. На даному виробництві використовується повітря класу С, D.

ДР 2.1 Підготовка вентиляційного повітря

Підготовку вентиляційного повітря здійснюють згідно з «Методичними рекомендаціями щодо підготовки вентиляційного повітря для виробничих приміщень» затверджені Наказом МОЗ України від 14 грудня 2001 р. № 502.

Для постачання виробництва вентиляційним повітрям використовують як звичайні системи турбулентної вентиляції, що забезпечують стерильність повітря у приміщенні, так і системи з ламінарним потоком повітря по всій площі приміщення чи у визначених робочих зонах.

Повітря для приміщень класу чистоти D використовують після фільтрів попереднього очищення повітря.

ДР 2.1.1 Забір повітря

Забір повітря відбувається через повітрозабірник і забірну шахту висотою 20 -30 м.

ДР 2.1.2. Попередня очистка повітря від механічних часток

Використовуються фільтри попередньої очистки з можливістю затримки механічних частинок більше 5 мкм. Для очистки повітря від грубого пилу використовують коміркові фільтри.

ДР 2.1.3 Транспортування повітря

Транспортування повітря відбувається за тиску 0,2 МПа.

ДР 2.1.4. Стабілізація термодинамічних показників повітря

Відбувається у ресивері, куди повітря поступає після попередньої очистки. Виходить повітря з ресиверу під тиском 0,3 МПа.

ДР 2.1.5. Стерилізація повітря

Очистка проходить на фільтрах типу НЕРА з діаметром пор 1,5 мкм. Забезпечується ступінь очищення 98%. Таке повітря придатне для використання у приміщеннях класу D.

ДР 2.2. Підготовка технологічного повітря

ДР2.2.1, ДР 2.2.2, ДР 2.2.3, ДР 2.2.4 повітря проходить аналогічно ДР 2.1

ДР 2.2.5. Стерилізація повітря

Відбувається на загальному фільтрі типу НЕРА з діаметром пор 0,5 мкм та на індивідуальному фільтрі, в залежності від технологічного процесу.

ДР 3. Водопідготовка

Проводиться у два етапи, які включають в себе попередню фільтрацію води та мембранну очистку.

ДР 3.1 Попередня фільтрація води

Відбувається на фільтрі попередньої очистки, де водопровідна вода очищується від механічних часток.

ДР 3.2. Мембранна очистка води

Відбувається з використанням високоякісних осмотичних мембран. В даній роботі буде використовуватись установка з продуктивністю 100 дм³ /год і з використанням мембрани типу УОФ 2500.

ДР 4. Приготування поживного середовища

Процес приготування ПС є дуже важливим і відповідальним, адже від цього напряму залежить якість продукту, який буде отриманий.

ДР 4.1.1 Дозування та змішування компонентів середовища NaCl

На приготування ПС для інокулятора ми витрачаємо 1,8 кг солі. Дозування NaCl відбувається із використанням технічних терезів, після чого сіль вручну засипається у реактор – змішувач, куди додається знесолена вода до концентрації розчину 0,05 %. Процес відбувається протягом 10 хвилин при температурі (60±1)°C.

ДР 4.1.2 Стерилізація розчину

Реактор – змішувач, в якому проводиться приготування розчину солі, оснащений сорочкою, де у процесі стерилізації циркулює вода температурою до (110±1)°C, за тиску 0,2МПа. Стерилізація проходить протягом 55 хвилин. Після завершення процесу, розчин по трубопроводу передається до пустого інокулятора, попередньо пройшовши через тканинний фільтр для відділення компонентів, що не розчинилися.

ДР4.2 Підготовка джерел вуглеводів

ДР 4.2.1 Дозування та змішування компоненту 1% розчину глюкози

На приготування ПС для посівного апарату ми витрачаємо 3,6 кг глюкози. Дозування глюкози відбувається із використанням технічних терезів, після чого засипається у реактор – змішувач, куди додається знесолена вода до концентрації розчину глюкози до 1 %. Процес відбувається протягом 10 хвилин при температурі (60±1)°C.

ДР 4.2.2 Стерилізація 1% розчину глюкози

З реактора готовий рзчин 1% глюкози подається у стерилізатор.Розчин глюкози стерилізують в паровому стерилізаторі насиченим паром під тиском 1,1 атм., при температурі (65±1)°C . Стерилізація проходить протягом 8 хвилин.

Після завершення процесу розчин по трубопроводу передається до інокулятора, попередньо пройшовши через тканинний фільтр для відділення компонентів, що не розчинилися.

4.2.3 Приготування розчину сухого пептона ферментативного

На приготування ПС для посівного апарату ми витрачаємо 3,6 кг сухого пептона. Дозування готового розчину сухого пептона ферментативного відбувається із використанням технічних терезів, після чого наливається у реактор – змішувач, куди додається знесолена вода до концентрації розчину до 0,1 %. Процес відбувається протягом 10 хвилин при температурі $(60\pm 1)^\circ\text{C}$.

4.2.4 Стерилізація розчину

З реактора готовий розчин сухого пептона 0,1% подається у стерилізатор. Розчин стерилізують в паровому стерилізаторі насиченим паром під тиском 0,2МПа при температурі $(121\pm 1)^\circ\text{C}$. Стерилізація проходить протягом 30 хвилин. Після завершення процесу розчин по трубопроводу подається до інокулятора.

4.2.5 Приготування розчину м'ясного екстракту 0,10-0,11 %

На приготування ПС для посівного апарату ми витрачаємо 4,0 кг м'ясного екстракту. Дозування готового розчину м'ясного екстракту 10% відбувається з використанням технічних терезів, після чого наливається у реактор – змішувач, куди додається знесолена вода до концентрації розчину до 0,10-0,11 %. Процес відбувається протягом 15 хвилин при температурі $(65\pm 1)^\circ\text{C}$.

4.2.6 Стерилізація розчину

З реактора готовий розчин м'ясного екстракту 0,10-0,11 % подається у стерилізатор. Розчин стерилізують в паровому стерилізаторі насиченим паром під тиском 12мПа., при температурі $(120\pm 1)^\circ\text{C}$. Стерилізація проходить протягом 20 хвилин. Після завершення процесу розчин по трубопроводу передається до інокулятора.

4.2.7 Стерилізація води

На приготування ПС для посівного апарату ми витрачаємо 279 м³ води. У стерилізатор подається вода. Воду стерилізують в паровому стерилізаторі

насиченим паром під тиском 120 кПА., при температурі $(120\pm 2)^\circ$. Стерилізація проходить протягом 8-15 хвилин. Після завершення процесу розчин по трубопроводу передається до інокулятора.

Всього ми витратили 292 кг компонентів на виготовлення ПС для інокулятора.

ТП5. Отримання посівного матеріалу

Для нормального росту, розвитку і розмноження культури продуцента необхідне середовище, яке забезпечить її всіма необхідними поживними речовинами.

ТП 5.1. Отримання чистої культури

5.1.1. Підтримання колекційної культури.

Колекційну культуру *B.subtilis* зберігають у пробірках на агаризованому середовищі МПА з додованням 1% глюкози в холодильнику при температурі $(2-4)^\circ\text{C}$ протягом 2 місяців. Всі роботи з культурою проводяться в асептичних умовах.

5.1.2. Отримання чистої культури з колекційної. Колекційну культуру, що зберігається в пробірках на середовищі МПБ з додованням 1% глюкози, розсівають петлею до ізолюваних колоній на чашці Петрі і культивують при температурі $(37\pm 1)^\circ\text{C}$ упродовж 18 год.

5.1.3.Отримання посівного матеріалу в колбах.

В качалочну колбу об'ємом 750 вносимо 132 см^3 ПС та $0,018\text{ м}^3$ чистої культури. Коефіцієнт заповнення качалочної колби 0,6. Для ферментації нам потрібно 12 колб з посівним матеріалом. Колбу з чистою культурою інкубують при температурі $(30\pm 1)^\circ\text{C}$ протягом 18 годин, використовуючи качалки для постійного перемішування з частотою обертання 250 об/ хв.

ТП 6. Отримання посівного матеріалу в інокуляторі

В інокуляторі відбувається перемішування компонентів ПС до їх повної гомогенізації.

Культуру з колби переносять у промисловий інокулятор ємністю $0,63\text{ м}^3$. На приготування ПС для інокулятора ми витрачаємо 13 кг наших компонентів.

Подають середовище враховуючи коефіцієнт заповнення посівного апарату 0,57% . Інкують при температурі (30 ± 1) °С, РН 7,0-7,6 протягом 20 годин.

ТП7. Культивування в посівному апараті

ТП7.1 Змішування компонентів поживного середовища

В посівному апараті відбувається змішування ПС та чистої культури до їх повної гомогенізації. На приготування ПС для посівного апарату ми витратили 2623 кг компонентів.

ТП 7.2 Внесення посівного матеріалу та вирощування у посівному апараті

Після інокулятора по трубопроводу ми передаємо посівний матеріал у промисловий посівний апарат ємністю 5,72 м³. Подають середовище враховуючи коефіцієнт заповнення посівного апарату 0,69% . Інкують при температурі (30 ± 1) °С, РН 7,0-7,6 протягом 30 год. Усі процеси пов'язані з накопиченням біомаси проводять в асептичних умовах. Після цього біомаса по трубопроводу подається у ферментер.

ТП 8. Виробниче культивування у ферментері

Приготоване стерильне ПС масою 29332 кг засівають посівним матеріалом у кількості 10% від об'єму середовища. Коефіцієнт заповнення ферментера 0,69%. Вихідний РН ПС 7,6 підтримують на оптимальному рівні. Процес протікає при температурі (37 ± 1) °С і тривалість ферментації становить 55 -60 годин.

Удосконалення технології виробництва α -амілази

Технологія отримання α -амілази , що включає отримання ферментного концентрату у ферментері . Цей етап включає вдосконалення ферментера, що покращить якість α -амілази і ефективність ферментера . Для вдосконалення біотехнології отримання α -амілази ми пропонуємо замінити старий ферментер на більш новий класу VEB Chemieanlagenbau Erfurt-Rudisleben з одновальними мішалками і барботажною аерацією. Заміна ферментера дозволяє покращити якість кінцевого продукту , скоротити кількість побічних продуктів та скоротити час ферментації .

Ферментація є основною і важливою стадією синтезу α -амілази.

Ферментери з одновальними мішалками і барботажною аерацією

Ця група є найбільш поширеною і відомою, що має промислове застосування. В промисловості використовують ферментери виробництва VEB Chemieanlagenbau Erfurt-Rudisleben місткістю 63 та 100 м³ з комбінованим введенням енергії. Ферментер який ми обрали має місткість 100 м³, вертикальний циліндричний корпус, по центру якого розташований вал з декількома ярусами відкритих турбін. Лопати мішалок розсувні. У нижній частині ферментеру розташований квадратний барботер. Для відведення тепла корпус ззовні має секціоновану сорочку, а всередині – плоскі вертикальні трубчасті теплообмінники, які одночасно виконують роль відбиваючих перегородок. Характерною рисою цього ферментера є те, що він має нижній привід мішалки, потужність електродвигуна-120/180 кВт, швидкість обертання валу мішалки 1 та 2.

Ферментери з комбінованим введенням енергії мають ряд загальних конструктивних ознак:

- вони обладнані багатоярусними мішалками;
- введення газової фази здійснюється через барботери різних конструкцій
- промислове використання орієнтоване на проведення асептичного біосинтезу;
- використання приводу мотор-редуктор дозволяє змінювати в широкому діапазоні рівень зрізових зусиль.
- при необхідності у типовому корпусі можлива установка додаткових пристроїв -дифузори, центральні або периферійні аератори, різні конструкції піногасників, секційонування за допомогою тарілок різних конструкцій.
- додаткова турбулізація ПС забезпечується за допомогою відбиваючих перегородок;
- для створення циркуляційних контурів ПС використовують вбудовані у ферментер спіральні теплообмінники або дифузори.

Загальна технічна характеристика промислового ферментера з комбінованим введенням енергії :

Об'єм, м³ – 40

Коефіцієнт заповнення % – 60-65

Висота корпусу , м – 6,2

Внутрішній діаметр апарата, м – 3,0

Тип мішалки – відкрита турбіна

Кількість ярусів мішалок – 2

Число обертів мішалки 1 – 3

Потужність електродвигуна , кВт – 14

Сорочка – 28,2

Правила експлуатації

Коректна експлуатація ферментеру – є основа стабільного і якісного біохімічного процесу. Від дотримання вимог залежить не тільки ефективність роботи, але і термін служби обладнання.

Перед початком роботи ферментер необхідно ретельно підготувати. Всі вузли і внутрішні поверхні повинні бути вимиті, оброблені відповідно до встановлених санітарних норм . Після очищення проводиться стерилізація, що забезпечує повну знезараженість внутрішнього простору.

В процесі стерилізації важливо слідувати вимогам, які були зазначені у попередніх розділах, щоб не допустити пошкодження обладнання або зниження якості продукції. Найчастіше використовується парова стерилізація, яка дозволяє швидко і безпечно підготувати пристрій до наступного циклу роботи.

Одним з основних параметрів є контроль температури всередині апарату. Необхідно стежити за тим, щоб температурний режим підтримувався стабільно протягом всієї ферментації. Сильні відхилення можуть призвести до загибелі культури або зміни характеристик кінцевого продукту.

Параметри ферментації α -амілази з *Bacillus subtilis* :

– Температура - (35±1) °C

- Тиск – (0,8-1) ст.атм
- РН середовища 6,5-7,0
- Час ферментації - 55-60 год.
- Режим аерації - 50-60 м³/год м³.

Важливу роль відіграє правильна робота мішалок, систем аерації. Нерівномірне перемішування або недостатня подача кисню сприяє утворенню застійних зон і уповільнення росту мікроорганізму. Тому регулярний контроль цих вузлів обов'язковий.

Після завершення роботи ферментер повинен пройти повну промивку. Не можна допускати накопичення відкладень або залишків ПС на внутрішніх поверхнях апарату. Це запобігає ризику контамінації і сприяє продовженню терміну служби обладнання.

Регулярна діагностика стану, пристрої ущільнень, мішалок, датчиків, клапанів допомагає своєчасно виявляти знос і запобігати аварійні ситуації. Використання оригінальних запасних частин і дотримання регламентних термінів обслуговування також підвищує надійність обладнання.

Ферментери з електронним управлінням вимагають перевірки працездатності датчиків і коректної роботи програмного забезпечення. У разі збоїв системи необхідно відразу вживати заходів по відновленню. Ферментери з електронним управлінням вимагають перевірки працездатності датчиків і коректної роботи програмного забезпечення. У разі збоїв системи необхідно відразу вживати заходів по відновленню стабільної роботи.

Увагу приділяють безпеці персоналу. Всі операції по завантаженню, вивантаженню, стерилізації та обслуговування необхідно виконувати із засобами індивідуального захисту.

У ферментері який ми пропонуємо є автоматичні системами промивання, що дозволяють скоротити час на підготовку, знизити трудовитрати. Використання таких рішень підвищує загальну виробничу ефективність.

Правильне навчання персоналу з експлуатації, обслуговування апаратів знижує ймовірність помилок, підвищує безпеку роботи і сприяє випуску

продукції високої якості. Дотримання правил дозволяє максимально ефективно використовувати ферментер у нашому виробництві. Завдяки чому ми досягнемо стабільних результатів та оптимального використання ресурсів.

Перевага :

Ферментер який ми пропонуємо забезпечує контроль над усіма параметрами процесу, що дозволяє досягти стабільної якості продукції. У таких апаратах легко регулювати температуру, рівень кисню, рН середовища, ступінь перемішування, що впливає на ріст нашої культури.

Ферментер забезпечує високу стерильність, мінімізують ризик зараження сторонніми мікроорганізмами. Сучасні моделі оснащені автоматизованими системами контролю і управління, що спрощує їх застосування.

Економічна ефективність використання пристроїв очевидна: за короткий період можна отримати значний вихід продукту з високим ступенем відтворюваності. При цьому досягається раціональне використання ресурсів, мінімізуються втрати сировини.

Дослідження показали, що вдосконалення біотехнології α -амілази з використанням методу заміни ферментера є ефективним підходом до отримання продуктів високої якості. Отримані результати мають практичне значення для харчової, фармацевтичної та косметичної промисловості, оскільки кінцеві продукти мають покращені фізико-хімічні властивості. Запропоновані удосконалення можуть бути впроваджені у промислове виробництво та сприятимуть підвищенню ефективності та конкурентоспроможності підприємств.

ТП 9. Сепарація культуральної рідини

Сепарація культуральної рідини відбувається у промисловому сепараторі із функцією саморозвантаження фірми «Вестфалія Сепаратор» при температурі (10-15)°C з продуктивністю 2000-4000 л/год, протягом 40 хвилин.

ТП 10. Автоліз біомаси

Процес включає наступні етапи:

Автоліз проводять при температурі (40-45)°C і РН 7±0,2 протягом 2-4 годин до ступеня розщеплення сторонніх домішок на 20-40%. Автоліз завершують шляхом нагрівання реакційної суміші до температури (50-60)°C протягом 15-20 хвилин для інактивації протеаз, які синтезує *B.subtilis* .

Суміш охолоджують і висушують при температурі (50-60)°C до залишкової вологості 14,0±2% , при виході автолізату становить 20±5% від маси суспензії. Весь процес автолізу займає 5-6 год .

ТП 11. Центрифугування.

Після автолізу суміш центрифугують для відділення клітинної стінки *B.subtilis* від суспензії . У результаті центрифугування ми отримуємо чистий автолізат без сторонніх домішок . Центрифугування проводять при температурі (10-15)°C та потужності 3000 об/хв.

ТП 12. Осадження препарату етанолом [52] .

Цей етап відбувається в установці безперервного осадження, куди з теплообмінника для охолодження подається спирт. Послідовним збільшенням концентрації розчинника у розчині можна здійснити фракціонування ферментного комплексу. При концентрації етанолу 48-52% осідає протеаза з розчину комплексу ферментів *B.subtilis*. Після відділення осаду протеази , концентрацію етанолу підвищують до 70-74%, і в осад випадає α -амілаза.

При змішуванні розчинника і водного розчину ферменту виділяється тепло і температура суміші підвищується на (5-10)°C. Час осадження займає 1,5 год.

ТП 13. Центрифугування.

Після осадження етанолом осад центрифугують для відділення остаточних домішок . В результаті центрифугування ми отримуємо чистий осад без сторонніх домішок . Центрифугування проводять при температурі (10-15)°C та потужності 2000 об/хв.

ПМВ 14. Пакування ,маркування та складання готового продукту

ПМВ 14.1.Фасування готової продукції

Ферментний препарат фасується у каністри номіналом 5 л за допомогою автоматичної машини для розливу у каністри з ваговим дозатором, ZCJ. Дане

обладнання автоматично здійснює подачу тари, її наповнення у відповідності із заданою масою і розвантаження наповнених ємностей. Кожна разливочна головка зручно регулюється за допомогою контролера ПЛК з сенсорним екраном. Швидкість пакування – 480 каністр /год [101].

ПМВ 14.2. Маркування і пакування продукції

На цій же автоматичній машині на каністру наноситься наліпка із назвою і всією необхідною інформацією. Далі каністри пакують у картонні коробки по 18 шт/коробка.

ПМВ 14.3 .Складання.

Після маркування продукту ,коробки з α -амілазою передають на склад.

ЗВ 15. Знешкодження та знезараження відходів

В процесі виробництва майже на кожному етапі утворюється певна кількість відходів, яку необхідно знешкодити перед утилізацією. Вся поетапна технологічна схема отримання α -амілази зображена у додаткі А

На цій же автоматичній машині на каністру наноситься наліпка із назвою і всією необхідною інформацією. Далі пакети запаковують у групові картонні коробки по 18 шт/коробка.

РОЗДІЛ 6

ЕКОНОМІЧНІ РОЗРАХУНКИ

Метою економічної частини кваліфікаційної роботи є техніко-економічне обґрунтування виробництва ферментного препарату α -амілази, який включає комплексний аналіз доцільності та ефективності інвестицій у технічне переоснащення у Ладиженський завод біопрепаратів «Ензим» [102].

Для реалізації поставленої мети в роботі передбачено виконання таких завдань:

- проаналізувати сучасний стан ринку виробництва α -амілази;
- обґрунтувати доцільність запровадження проєкту з техніко-економічної точки зору;
- визначити обсяг інвестиційних ресурсів, необхідних для реалізації проєкту;
- провести розрахунок оподаткованого та чистого прибутку
- оцінити строк окупності вкладених інвестицій.

6.1. Маркетинговий аналіз ринку α -амілази в Україні

На сучасному етапі ферментна галузь України перебуває у процесі розвитку, проте випуск низки ферментних препаратів, зокрема α -амілази, є недостатнім для задоволення потреб внутрішнього ринку. У результаті підприємства харчової, фармацевтичної галузей та аграрного сектору економіки значною мірою змушені використовувати імпортні ферменти. Обмежені виробничі потужності та нестача конкурентоспроможних вітчизняних ферментних продуктів посилюють залежність українських виробників від закордонних постачальників. Така ситуація спричиняє зростання витрат на ферментні препарати й, відповідно, підвищення собівартості готової продукції [103].

Ринок α -амілази є частиною світового ринку промислових ферментів і характеризується стабільним зростанням завдяки широкому застосуванню в харчовій, спиртовій, пивоварній, кормовій та біотехнологічній промисловості. α -Амілаза є одним із найбільш комерціалізованих ферментів, оскільки:

використовується на початкових стадіях гідролізу крохмалю; має універсальне застосування; легко масштабується у промисловому виробництві. Основними сферами попиту є спиртова, крохмале-патокова, пивоварна, хлібопекарська та кормова галузі.

Провідні компанії Novonosis (Novozymes), DSM-Firmenich, DuPont (IFF), AB Enzymes. контролюють значну частину світового ринку α -амілази завдяки: власним штамам-продуцентам; запатентованим технологіям, широким дистриб'юторським мережам. Вітчизняний ринок α -Амілази характеризується високою залежністю від імпорту, наявністю потенційного попиту з боку харчової промисловості, зацікавленістю у вітчизняних ферментних препаратах з нижчою ціною. Це створює передумови для розвитку локального виробництва α -амілази; удосконалення технології з метою зниження собівартості та підвищення конкурентоспроможності вітчизняних препаратів.

6.2. Техніко-економічне обґрунтування необхідності впровадження проєкту.

Розвиток біотехнологічної галузі та зростання попиту на ферментні препарати обумовлюють необхідність модернізації існуючого виробництва, яке наразі не забезпечує достатнього рівня продуктивності та економічної ефективності.

Проєкт передбачає оновлення виробничої лінії на Ладжинському заводі препаратів мікробіологічного синтезу «Ензим», яке наразі є провідним вітчизняним підприємством такого профілю. Подальше переоснащення лінії дозволить оптимізувати виробничі процеси та організувати ефективно виробництво високотемпературної α -амілази мікробіологічним методом з додаванням 1% глюкози у обсязі 20000 тис. товарних тонн.

Підвищення виходу високотемпературної α -амілази у два рази та зростання ступеня її очищення у 25 разів забезпечують суттєвий економічний ефект. Збільшення концентрації активного ферменту дозволяє зменшити витрати сировини, енергоносіїв і допоміжних матеріалів у розрахунку на одиницю готової продукції. Оптимізація умов культивування та скорочення тривалості

процесу сприяють зниженню виробничих витрат і підвищенню продуктивності обладнання. У сукупності це призводить до зменшення собівартості ферментного препарату, зростання прибутковості виробництва та підвищення конкурентоспроможності продукції на ринку.

Прогнозована економічна ефективність проекту зумовлена зниженням собівартості продукції на 25–30 % відносно імпортних аналогів, що досягається завдяки оптимізації використання сировини, упровадженню енергоощадного обладнання та скороченню обсягів виробничих відходів. Проектна виробнича потужність у 20 000 т на рік сприятиме розширенню ринків збуту, зменшенню логістичних витрат і підвищенню конкурентоспроможності продукції. За результатами розрахунків термін окупності проекту становить 3–4 роки, а рівень рентабельності перевищує 15 %.

Додатково впровадження проекту передбачає формування близько 25 нових робочих місць із рівнем середньої заробітної плати 22 тис. грн, що сприятиме поліпшенню соціально-економічних показників розвитку Вінницького регіону. Тривалість реалізації проекту оцінюється у 6–8 місяців, при цьому досягнення запроєктованої виробничої потужності планується протягом першого року функціонування підприємства.

6.3. Розрахунок економічної ефективності проекту

Визначення обсягу інвестицій при модернізації технології виробництва лужної протеази є одним із базових етапів оцінки фінансових потреб та економічної доцільності проекту. На цьому етапі здійснюється комплексний аналіз капітальних і поточних витрат, пов'язаних зі створенням виробничої бази, придбанням і введенням в експлуатацію спеціалізованого обладнання, забезпеченням сировинними ресурсами та організацією запуску виробничого процесу. Особливу увагу приділено витратам на технологічне забезпечення ферментації мікроорганізмів *B. subtilis* у ферментері, оптимізацію режимів процесу, утримання персоналу та інші ресурси, що визначають стабільність і результативність виробництва. Коректний розрахунок інвестиційних витрат є

підґрунтям для подальшого планування виробничої програми, формування ціни продукції та прогнозування фінансово-економічних показників проєкту.

Розрахунок інвестицій у проєкт

Об'єктом дослідження є діюче підприємство мікробіологічного синтезу «Ензим», яке спеціалізується на випуску ферментних препаратів. У межах цього підприємства планується реалізація проєкту модернізації існуючих виробничих потужностей із метою їхнього переоснащення та запуску нової лінії виробництва α -амілази.

Для оцінки фінансових потреб проведемо розрахунок інвестицій у проєкт реконструкції. Загальна сума інвестицій (I) визначається за формулою:

$$I = I_{\text{РЕК}} + V_{\text{УСТ}} + T + M + H + V_{\text{ЗАЛ}} + Д - Л + \Delta\text{ОА}$$

де $I_{\text{РЕК}}$ – витрати на реконструкцію виробничих потужностей;

$V_{\text{УСТ}}$ – вартість придбання устаткування;

T – транспортні витрати на доставку обладнання (5% від вартості);

M – витрати на монтаж обладнання (10 % від вартості);

H – непередбачувані витрати (2 %) від вартості обладнання;

$V_{\text{ЗАЛ}}$ – залишкова вартість демонтованого обладнання, тис. грн.;

Д – вартість демонтажу, тис. грн. (5 % від вартості демонтованого обладнання);

Л – ліквідаційна вартість демонтованого обладнання.

$\Delta\text{ОА}$ – приріст власних обігових активів, тис. грн.

Перелік обладнання технологічної лінії, необхідного для виробництва ферментного препарату α -амілази, наведено в таблиці 6.4.

Розрахуємо інвестиції, які потрібні для впровадження технологічної лінії виробництва ферментного препарату α -амілази на діючому біотехнологічному виробництві.

Вартість придбання устаткування $V_{\text{УСТ}} = 709859$ тис. грн.

Витрати на реконструкцію $I_{\text{РЕК}}$ складають 20% від вартості устаткування,

$$I_{\text{РЕК}} = 141972 \text{ тис. грн.};$$

Відповідно до умов постачальників, витрати на транспортування та монтаж обладнання не включаються в основну вартість і розглядаються окремо.

Таблиця 6.4- Перелік обладнання для технологічної лінії виробництва:

Назва обладнання	Кількість од.	Вартість тис. грн.	Загальна вартість тис. грн
Повітрозбірник	1	15000	15000
Фільтр грубої очистки	1	8000	8000
Компресор	1	25000	25000
Теплообмінний апарат	1	30000	30000
Ресивер	1	5000	5000
Головний фільтр очистки повітря	1	7000	7000
Пробірки та колби	-	2000	2000
Збірник змішувач компонентів ПС	3	10000	30000
Відцентровий насос	7	12000	84000
Стерилізатор СП	1	40000	40000
Теплообмінник	1	35000	35000
Реактор змішувач	2	50000	100000
Збірник стабілізатора	2	8000	16000
Інокулятор	1	22000	22000
Фільтр індивідуальної очистки	3	5000	15000
Посівний апарат	1	20000	20000
Ферментер	1	120000	120000
Резервуар для піногасника	1	10000	10000
Ультрафільтраційна установка	1	55000	55000

Випарна установка	1	40000	40000
Розпилювальна сушарка	1	90000	90000
Пакувально-фасувальний апарат	1	28859	28859
Всього			709859

Транспортні витрати по устаткуванню: (Т); тис. грн.;

$$T = V_{\text{УСТ}} \times 5 \%$$

$$T = 709859 \times 0,05 = 35493 \text{ тис. грн.};$$

Вартість монтажу устаткування: (М); тис. грн.

$$M = V_{\text{УСТ}} \times 10 \%,$$

$$M = 709859 \times 0,1 = 70986 \text{ тис. грн.};$$

Невраховані витрати: (Н); тис. грн.

$$H = V_{\text{УСТ}} \times 2 \%$$

$$H = 709859 \times 0,02 = 14197 \text{ тис. грн.};$$

Залишкова вартість демонтованого устаткування $V_{\text{ЗАЛ}} = 950$ тис. грн.;

Вартість демонтажу (Д); тис. грн.;

$$D = V_{\text{ДУ}} \times 0,05$$

$$D = 950 \times 0,05 = 48 \text{ тис. грн.};$$

Ліквідаційна вартість демонтованого обладнання, з урахуванням податку на прибуток, (Л); тис. грн.

$$L = MB \times (1 - \text{ПНП})$$

де МБ – вартість металобрухту, тис. грн.

ПНП – податок на прибуток, 18%

$$L = 902,5 \times (1 - 0,18) = 740 \text{ тис. грн.};$$

Розрахуємо приріст власних обігових активів за формулою :

$$\Delta OA = C_{\text{ЗАГ}} \times k$$

де $C_{\text{ЗАГ}}$ – загальна собівартість партії готової продукції; тис. грн..

k – частка обігових активів (%).

Частка матеріальних витрат у собівартості продукції коливається від 60% до 80%. Однак для запуску пускової партії продукції, зважаючи на специфіку процесу, достатньо використати 25%–35% цієї суми для закупівлі необхідних обігових активів. Для розрахунку потреби в обігових активах приймаємо значення 30%, що оптимізує витрати на закупівлю матеріальних ресурсів

$$\Delta OA = 1\,561\,060 \times 0,3 = 468\,318 \text{ тис. грн.};$$

Розрахуємо загальну суму інвестицій для проєкту:

$$I = 709\,859 + 141\,972 + 35\,493 + 70\,986 + 14\,197 + 950 + 48 - 740 + 468\,318 = 1\,109\,624 \text{ тис. грн.}$$

Розрахунок виробничої програми

В роботі заплановано обсяг виробництва α -амілази 20000 тонн за рік. Коефіцієнт використання виробничої потужності розраховуємо за формулою:

$$K_{вп} = \frac{OB_{р\dot{и}ч}}{ВП}$$

де $OB_{р\dot{и}ч}$ – річний обсяг виробництва продукції, тонн

ВП – річна виробнича потужність, тонн

Таблиця 6.5.- Використання потужності лінії

Технологічна Лінія	Обсяг виробництва за рік, т	Виробнича потужність за рік, т	Коефіцієнт використання потужності
α -амілази	20000	25000	0,8
Всього	20000	25000	0,8

Розрахунок чисельності працівників (основний, допоміжний та управлінський персонал)

Технологічна лінія з виробництва α -амілази працює протягом усього року, однак її виробничий процес не є високотрудоємним, що дозволяє знизити потребу в значній кількості персоналу для забезпечення безперервної роботи. У зв'язку з цим загальне збільшення чисельності працівників на підприємстві в разі

впровадження даного проєкту визначається як сума чисельності основних робітників, допоміжного персоналу та адміністративно-управлінського складу. Адміністративно-управлінський склад залишиться у тому ж обсязі, що є на діючому виробництві. Чисельність працюючих на підприємстві (Ч) розраховується за наступною формулою:

$$Ч = Ч_{\text{РОБ}} + Ч_{\text{АУП}}, \text{ де}$$

$Ч_{\text{РОБ}}$ – чисельність робітників підприємства (основних і допоміжних);

$Ч_{\text{АУП}}$ – чисельність адміністративно-управлінського персоналу;

Чисельність основних робітників планується – 19

Чисельність допоміжних робітників становить 30% від чисельності основних робітників – 6

Додаткова кількість працівників становить 25 осіб, і кожен з них отримує оплату праці в розмірі 22 тисяч гривень на місяць.

Таблиця 6.6. – Структура чисельності працюючих, (%)

Категорії робітників	Форми відтворення виробничого потенціалу		
	Будівництво	Розширення	Реконструкція, технічне переозброєння
Робітники (основні і допоміжні)	80 20	90 10	90 10
Керівники, спеціалісти			
Всього	100	100	100

Розрахуємо основну заробітну плату робітників за рік при виробництві 20000 тонн ферментного препарату :

Основна заробітна плата (ЗП_О) за рік розраховується за формулою:

$$ЗП_{\text{О}} = ЗП \text{ місяць} \cdot \text{Кількість працівників} \cdot \text{Кількість місяців у році}$$

$$ЗП_0 = 23 \times 25 \times 12 = 360472 \text{ тис. грн.};$$

Додаткова заробітна плата складає 15 % від основної:

$$ЗП_д = 360472 \times 0,15 = 54120 \text{ тис. грн.};$$

Відрахування на соціальні заходи складають 22% від суми основної і додаткової заробітної плати:

$$ЗП_{сз} = (ЗП_0 + ЗП_д) \times 0,22$$

$$ЗП_{сз} = (2160 + 324) \times 0,22 = 2484 \times 0,22 = 546,48 \text{ тис. грн.};$$

Розрахунок собівартості продукції

Визначимо собівартість виробництва лужної протеази, склавши калькуляцію витрат за один цикл. Витрати, що відносяться до статті "Сировина та основні матеріали" та "Допоміжні матеріали", наведено в таблицях 6.7 та 6.8 які детально відображають відповідні витрати на основні компоненти поживного середовища та допоміжні матеріали які необхідні для виробничого процесу.

Таблиця 6.7. – Витрати за статтею «Сировина та основні матеріали»

Назва	Норма витрат, кг	Вартість кг, грн	Загальна вартість, тис. грн
Пептон	836	1426	1191934
Екстракт м'ясний гранульований	385	2213	851954
Натрій хлорид (NaCl)	385	25	9625
Глюкоза	585	125	73125
Фосфат калію (K ₂ HPO ₄)	38	355	13490
Магній сульфат (MgSO ₄ × 7H ₂ O)	16	230	3680
Вода	52260	-	-
Всього	-	-	2143808

Таблиця 6.8. – Витрати за статтею «Допоміжні матеріали»

Найменування	Кількість, од.	Ціна за од., грн	Загальна вартість, тис. грн
--------------	----------------	------------------	-----------------------------

Миючі засоби	10	20,9	209,0
Дезінфікуючі засоби	5	95	475,0
Каністра, 5 кг	4000	38	15200
Етикетки, 7x10 см	4000	1,5	6000
Коробки	1000	6,38	638
Всього			25912

Витрати за статтею «Паливо і енергія на технологічні потреби» детально наведені в таблиці 6.9. У ній відображено обсяги споживання електроенергії, палива та води, необхідних для забезпечення безперервного перебігу технологічного процесу одержання α -амілази, а також оцінено їхній вплив на загальну собівартість продукції. Аналіз зазначених витрат дає змогу визначити основні напрями оптимізації енергоспоживання та підвищення ефективності використання виробничих ресурсів.

Таблиця 6.9. – Витрати за статтею «Паливо та енергія на технологічні потреби»

Назва	Одиниця вимірювання	Затрати на випуск	Ціна грн	Загальна вартість, тис. грн.
Електроенергія	кВт/год.	22289	6,94	154684
Вода	м ³	372	46,20	17188
Всього				171872

Витрати на утримання та експлуатацію обладнання охоплюють сукупність витрат, необхідних для забезпечення стабільної та безперебійної роботи виробничих засобів. До їх складу належать амортизаційні відрахування на основні засоби, витрати на поточний ремонт і технічне обслуговування, витрати на відновлення та компенсацію фізичного зносу обладнання, а також інші витрати, пов'язані з його експлуатацією. Зазначені витрати спрямовані на

підтримання належного технічного стану виробничих ліній та забезпечення ефективності функціонування основних засобів підприємства.

Згідно з нормативами підприємства, витрати на утримання та експлуатацію обладнання розраховуються як 19-20 % від основної заробітної плати виробничих робітників, використаємо 19,5%.

Тоді річні «Витрати на утримання і експлуатацію обладнання» становитимуть:

$$360472 * 0,195 = 70520 \text{ тис. грн}$$

Загальновиробничі витрати включають витрати на обслуговування виробничої лінії та підприємства в цілому. До них відносяться: оплата праці адміністративного та допоміжного персоналу з усіма відрахуваннями; витрати на відрядження та службові поїздки; амортизація основних засобів загальновиробничого призначення; поточний ремонт будівель, обладнання та інвентарю; заходи з удосконалення технологічного процесу та організації виробництва; витрати на охорону, а також обов'язкові платежі та податки.

Норматив таких витрат, відповідно до даних підприємства, становить близько 30% від основної річної заробітної плати: $2360472 \times 0,3 = 105616$ тис. грн.

Виробнича собівартість одного циклу включає витрати на сировину та основні матеріали, допоміжні матеріали, паливо та енергію для технологічних потреб, заробітну плату та додаткові виплати працівникам, відрахування на соціальні потреби, витрати на утримання та експлуатацію обладнання, а також загальновиробничі витрати. Загальна сума цих складових визначає собівартість виробництва одного циклу.

$$2\,143\,808 + 25912 + 85,872 + 180 + 27 + 45,54 + 35,17 + 52,7 = 3022848 \text{ тис.грн.};$$

Розрахуємо витрати за статтею «Адміністративні витрати», які плануємо 3,5 % від виробничої собівартості:

$$1509,8 \times 0,035 = 52,84 \text{ тис. грн.};$$

До цих витрат входять всі витрати, пов'язані з реалізацією продукції: маркетинг і реклама, заробітна плата торгового персоналу, а також інші витрати, необхідні для ефективного продажу ферментного препарату.

$$1\,509,8 \times 0,03 = 45,294 \text{ тис. грн.};$$

Витрати за статтею «Інші операційні затрати», плануємо 2 % від виробничої собівартості : $1\,509,8 \times 0,02 = 30,19$ тис. грн.;

Розрахунок загальної річної собівартості узагальнимо в таблиці 6.9.

Розрахунок калькуляції виробництва α -амілази, отриманої за допомогою продуцента *B. subtilis*, показав, що загальна собівартість складає 3280000 тис. грн, що відповідає вартості 771,5 грн за 5 кг каністру препарату.

Собівартість препарату на весь обсяг виробництва наведена в табл.6.10.

Розрахуємо собівартість всієї виробленої продукції за формулою:

$$C_{\text{ЗАГ}} = \text{ОВ} \times C_{\text{ОД}}, \text{ де}$$

ОВ– обсяг виробництва певного виду продукції;

$C_{\text{ОД}}$ – собівартість одиниці певного виду продукції

Таблиця 6.10. – Загальні річні витрати на виробництво 20000 тонн ферментного препарату, тис. грн

Статті витрат	Лужна протеаза
1. Сировина і основні матеріали	2 143 808
2. Допоміжні матеріали	25912
3. Паливо і енергія на технологічні цілі	171872
4. Основна заробітна плата виробничих робітників	360472
5. Додаткова заробітна плата виробничих робітників	54120
6. Відрахування на соціальні потреби	91184
7. Витрати на утримання та експлуатацію обладнання	70520
8. Загальновиробничі витрати	105616
Виробнича собівартість	3022848
9. Адміністративні витрати	105944

10. Витрати на збут	90856
11. Інші операційні витрати	60352
Повна собівартість	3280000

Таблиця 6.11. – Розрахунок собівартості продукції

Найменування продукції	Річний обсяг виробництва, тонн / рік	Собівартість 1 тонни тис. грн.;	Собівартість виробленої продукції, тис. грн.;
α-амілаза	20000	164	3280000

$$C_{3AG} = 20000 \times 164 = 3280000;$$

Розрахуємо ціну тонни продукції ($C_{Од}$) за допомогою формули:

$$C_{Од} = C_{Од} \times (1 + P / 100),$$

де P – рентабельність продукції по кожному виду (на рівні 12-15%).

$$C_{Од} = 164 \times (1 + 0,12) = 183,9 \text{ тис. грн.};$$

Обсяг виробленої продукції в діючих цінах розраховується за формулою:

$$ОВ = C_{Од} \times ОВ.$$

$$ОВ = 183,9 \times 20000 = 3678000 \text{ тис. грн.};$$

Проведений аналіз ринку показав, що роздрібні ціни на аналогічні ферментні продукти коливаються в межах від 1 533 до 2 550 грн за каністру 5 кг, що залежить від активності препарату, ступеня його очищення та репутації виробника. Відповідно, оптові ціни будуть становити від 1070 до 1785 грн за каністру. На нашому виробництві завдяки інноваціям можна досягти ціни за 5 кг каністру 864 грн, тобто оптова ціна однієї тонни препарату становитиме 172,8 тис. грн. (864*200 каністр).

Розрахунок прибутку та чистого прибутку

Проведемо розрахунок прибутку від реалізації ферментного препарату. Збільшення обсягів виробництва α-амілази сприяє росту оподаткованого

прибутку (П), який обчислюється з урахуванням доходів від реалізації та витрат на виробництво за наступною формулою:

$$П = ОВ - С_{ЗАГ},$$

де П – прибуток за рік, тис. грн.;

ОВ – обсяг виробленої продукції, тис. грн.;

$C_{ЗАГ}$ – собівартість виробленої продукції, тис. грн.

$$П = 3678000 - 3678000 = 398000 \text{ тис. грн.};$$

Розрахуємо чистий прибуток, який залишається в розпорядженні досліджуваного підприємства за формулою:

$$ЧП = П - П_{П}$$

де $П_{П}$ – ставка податку на прибуток. В Україні ставка податку на прибуток підприємств на загальній формі оподаткування складає 18%.

$$П_{П} = П \times 0,18 = 398000 \times 0,18 = 71640 \text{ тис. грн.};$$

$$ЧП = 398000 - 71640 = 326360 \text{ тис. грн.};$$

Розрахунок терміну окупності інвестицій

Проведемо розрахунок терміну окупності інвестицій. У межах даної кваліфікаційної роботи передбачено придбання основного обладнання для оснащення виробничої лінії α -амілази. Термін окупності інвестицій обчислюється за формулою:

$$T_{OK} = I / ЧП,$$

$$T_{OK} = 53530 / 15744 = 3,4 \text{ роки}$$

Основні техніко – економічні показники проекту занесемо у таблицю 6.12

Таблиця 6.12. – Основні техніко – економічні показники проекту

	Найменування показників	Значення показників
1	Виробнича потужність, тонн	25000
2	Річний обсяг виробництва, тонн	20000
3	Обсяг виробленої продукції, тис. грн.;	3678000

4	Собівартість виробленої продукції, тис. грн.;	3280000
5	Прибуток, тис. грн.;	398000
6	Чистий прибуток, тис. грн.;	326360
7	Чисельність працюючих, людей	25
8	Середньорічний виробіток одного працівника, тис. грн./особу;	147120
9	Інвестиції, тис. грн.;	1109624
10	Строк окупності інвестицій, років	3,4

ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 6

За результатами проведених досліджень, виконаних розрахунків і аналізу економічної доцільності впровадження проєкту з удосконалення технології виробництва ферментного препарату α -амілази встановлено, що його реалізація є доцільною та має значний потенціал розвитку. Проєкт характеризується позитивними фінансово-економічними показниками й підвищеною виробничою результативністю. Запропоновані технологічні зміни сприятимуть оптимізації виробничих процесів, нарощуванню обсягів випуску продукції та отриманню суттєвого економічного ефекту. Удосконалення технології виробництва дозволяє: зменшити залежність від імпорту; зайняти нішу серед середньоцінових препаратів; забезпечити стабільний попит з боку ключових галузей промисловості.

Прогнозований річний обсяг виробництва α -амілази становитиме 20000 товарних тонн, що забезпечить валовий дохід у розмірі 3678000 тис. грн. Собівартість виробництва при цьому складатиме 3280000 тис. грн., а чистий прибуток досягатиме 326360 тис. грн., що є показником високої економічної ефективності проєкту. Досягнуті результати створюють передумови для забезпечення рентабельного та сталого розвитку досліджуваного підприємства.

Реалізація проєкту також сприятиме значному підвищенню продуктивності праці. Очікується, що середньорічний виробіток на одного працівника сягне 147120 тис. грн., що підтверджує ефективне використання трудових ресурсів, впровадження сучасних технологій і вдосконалення організації виробничих процесів. Цей показник є індикатором високої конкурентоспроможності та зростання ефективності підприємства.

Загальний обсяг інвестицій, необхідних для реалізації проєкту, складе 1109624 тис. грн., а строк окупності орієнтовно становитиме 3,4 роки. Такий фінансовий показник привабливий для інвесторів і потенційних партнерів, оскільки він демонструє швидку окупність вкладених коштів та мінімізацію інвестиційних ризиків.

Таким чином, удосконалення технологічного процесу виробництва α -амілази дозволить підприємству зміцнити свої позиції на ринку, збільшити конкурентоспроможність і забезпечити стабільність фінансових показників, що створить сприятливі умови для подальшого інноваційного розвитку підприємства. Зокрема, додавання 5–10% стерильної сироватки баранячої крові у ПС: підвищує ефективність виробництва вдвічі, скорочує час росту культури, робить фермент чистішим і якіснішим і т. ін. Отже, розвиток власного виробництва альфа-амілази, зменшує залежність від імпорту та може стати перспективним напрямом високотехнологічного експортно орієнтованого виробництва.

РОЗДІЛ 7

ОХОРОНА ПРАЦІ ТА НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА

Процеси біотехнологічного отримання α -амілази потребують не лише високої технологічної точності, але й чіткого дотримання вимог з охорони праці та екологічної безпеки. З урахуванням використання біологічно активних ферментів, органічних розчинників та обладнання з підвищеними вимогами до технічного обслуговування, виникає необхідність у впровадженні комплексних заходів для мінімізації ризиків для персоналу та довкілля.

До апаратів з перемішувачами пристроями виносяться наступні вимоги безпеки:

– Для забезпечення безпеки експлуатації апарати повинні відповідати вимогам ГОСТ 12.2.003 та ГОСТ 12.2.007, а також документам, що складаються на кожен апарат конкретного типу. Апарати, що працюють за надлишкового тиску, повинні відповідати вимогам ПБ 10115-97;

– Для захисту теплообмінного пристрою під час експлуатації повинні виступати такі засоби захисту як:

- захист від гідравлічних, теплових або механічних ударів;
- захист від пульсації тиску;
- захист від перевищення тиску вище максимального значення;
- захист від підвищеної вібрації теплообмінника;
- захист під впливу сонячних променів;
- захист від джерел ультрафіолетового випромінювання;
- захист від потрапляння чужорідних тіл у внутрішні порожнини;
- захист від ерозії та зношування матеріалів.

Своєчасне і якісне виконання заходів із технічного обслуговування приладу попереджає появу несправностей у його роботі та забезпечує високий рівень експлуатаційної надійності теплообмінника .

Працівники біотехнологічного виробництва можуть бути піддані впливу таких небезпечних факторів, як:

- біохімічні реагенти, що можуть викликати подразнення чи алергічні реакції;
- токсичні пари органічних розчинників;
- ризик перегрівання обладнання та розгерметизації систем під тиском;
- підвищене шумове навантаження від обертальних механізмів;
- ризик пожежі внаслідок використання легкозаймистих рідин.

З метою захисту працівників застосовуються наступні заходи:

- забезпечення персоналу засобами індивідуального захисту, включаючи костюми з антистатичними властивостями, респіратори, захисні щитки та гумові рукавиці;
- встановлення систем сигналізації та автоматичних протипожежних пристроїв, які спрацьовують при перевищенні допустимих температур або виявленні парів розчинників;
- проведення інструктажів з техніки безпеки перед початком роботи, періодичне тестування знань працівників;
- створення медичного пункту на підприємстві та регулярні профілактичні медогляди працівників, які контактують з біоактивними речовинами;
- організація зон санітарного контролю та щоденна перевірка чистоти робочих приміщень.

– Апарати мають бути герметичні відносно зовнішнього середовища.

Ступінь герметичності, а також методи її дослідження визначаються згідно ГОСТ 26-11-14;

– На апаратах, що вміщують невибухонебезпечні речовини і речовини, що віднесені до 4 класу небезпеки по ГОСТ 12.1.007(речовини малонебезпечні), допустиме використання одинарних торцьових сальникових ущільнювачів і гідрозатворів;

– Корпуси апаратів та їх зйомні одиниці, що працюють в умовах надлишкового тиску, мають бути захищені від надмірного підвищення тиску

запобіжниками – пружинними клапанами прямої дії, або запобіжними мембранами, які встановлюються прямо на апараті, чи трубопроводі, який під'єднаний до апарату [104,105];

– Вибір електрообладнання треба здійснювати згідно з вимогами «Правила влаштування електроустановок. Вид. 6-е, 1986», а заземлення повинне відповідати вимогам ГОСТ 12.1.030, ГОСТ 12.1.038, ГОСТ 12.2.007.0 .

– Температура зовнішніх поверхонь апаратів, термоізоляційних покриттів, які можуть знаходитись у прямому контакті з робочими місцями і обслуговуючим персоналом, має бути не більше 45°C при установці апарата всередині приміщення, і не більше 60°C при встановленні апаратів ззовні.

Будь – які роботи, що проводяться з апаратами на промисловості мають відповідати всім вимогам, наведеним у «ССБТ. Процеси виробничні. Загальні вимоги безпеки» та ГОСТ 121004-91 [104].

Норми перевіряються за наступними параметрами:

- рівень шуму і вібрацій;
- освітленість робочого місця;
- запиленість приміщення;
- загазованість приміщення;
- фізичні характеристики;

вміст шкідливих речовин за ГДК, які вказані у ГОСТ 12.1.005-88 «ССБТ. Загальні санітарно-гігієнічні вимоги до повітря робочої зони».

На будь – якому біотехнологічному підприємстві повинна регулярно проводитись комплексна профілактика, яка включає в себе вдосконалення технологічного обладнання, ефективну роботу вентиляційної системи, забезпечення герметичності обладнання, перевірка якості переробки відходів і максимальна мінімізація відходів. Проводиться регулярний обов'язковий лабораторний контроль вмісту шкідливих хімічних речовин у повітрі робочої зони. Їх кількість не повинна перевищувати вказані регламентовані норми. Особливе місце займає боротьба із шумом та вібрацією. Використовуються спеціальні протишумні, віброгасильні пристрої і матеріали, правильне

планування виробничих приміщень, щмопоглинальні будівельні матеріали. Також працівники забезпечуються індивідуальними засобами захисту. Працівникам грамотно компонують робочий день, поєднуючи час праці і відпочинку. Основними несприятливими факторами біотехнологічних виробництв, особливо підприємств з випуску ферментних препаратів, є живі і мертві мікроорганізми, продукти їх життєдіяльності, пил білка, а також хімічно активні речовини, що надходять до органів дихання у вигляді аерозолів, або забруднюючи відкриті ділянки тіла.

Щоб попередити забруднення атмосфери використовують герметизацію виробничих апаратів, а також використовують такі очисні прилади, як циклони, гідроциклони, пилоосаджуючі камери, тканинні і електричні фільтри, скрубери.

Важливою також є стерилізація стічних вод, адже вони можуть містити живу мікрофлору та шкідливі продукти життєдіяльності мікроорганізмів.

Забрудненість стічних вод оцінюється зазвичай двома показниками:

- 1) хімічним поглинанням кисню (ХПК) – кількістю кисню (мг), якої досить для повного хімічного окислення всіх забруднень в 1 л стоку;
- 2) біологічним поглинанням кисню (БПК) – кількістю кисню (мг), яке споживається мікроорганізмами для окислення органічних речовин в одному літрі стоку.

Екологічні проблеми виробництва α -амілази пов'язані з використанням великої кількості технологічної води та повітря, що в подальшому перетворюються на промислові викиди. Очищення стічних вод здійснюється відповідно до Правил охорони поверхневих вод від забруднення зворотними водами, що затверджено постановою Кабінету Міністрів України від 25 березня 1999 р. № 465 [106].

Контроль викидів в атмосферу здійснюється відповідно до Державних санітарних правил охорони атмосферного повітря населених пунктів (від забруднення хімічними та біологічними речовинами) (ДСП-201-97), що затверджено наказом Міністерства охорони здоров'я України від 9 липня 1997 р. № 201 [107].

ВИСНОВОК ДО РОЗДІЛУ 7

1. Забезпечення умов безпечної праці та збереження довкілля є ключовими складовими ефективного функціонування сучасного біотехнологічного виробництва. Впровадження комплексної системи захисту працівників, екологічний моніторинг і раціональне використання ресурсів сприяють досягненню високих стандартів якості продукції, зменшенню техногенного навантаження та підвищенню загальної екологічної відповідальності підприємства.
2. Оцінка виробничих ризиків. Біотехнологічне виробництво α -амілази супроводжується низкою факторів професійної небезпеки — біологічних, хімічних, фізичних. Використання токсичних речовин, нагрітих під тиском апаратів, а також біоактивних компонентів вимагає жорсткого контролю умов праці. Забезпечення працівників сучасними засобами індивідуального захисту, регулярне навчання з техніки безпеки, а також санітарно-медичні заходи дозволяють зменшити виробничі ризики до мінімуму.
3. Система екологічної безпеки. Технологія отримання α -амілази передбачає утворення побічних продуктів і потребує відповідального підходу до поводження з відходами. Використання безвідходних рішень, очищення стічних вод та передача відходів на ліцензовану утилізацію — це складові політики екологічної відповідальності підприємства. Ферментативні методи додатково зменшують кількість шкідливих хімічних агентів у процесі виробництва.
4. Комплексна ефективність заходів. Інтеграція заходів охорони праці та довкілля забезпечує не лише відповідність законодавству, а й формує сталу модель виробництва. Модернізація обладнання, зниження енерговитрат, впровадження систем рекуперації та контроль екологічного стану навколишнього середовища — усе це сприяє зниженню техногенного навантаження та формуванню позитивного іміджу підприємства.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ІНФОРМАЦІЙНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Рібун В. С., Челядин В. Л., Челядин Л. І. ТЕХНОЛОГІЧНІ ТА ЕКОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ УДОСКОНАЛЕННЯ СПОСОБУ ОТРИМАННЯ БІОПАЛИВ З РОСЛИННИХ ОЛІЙ. *Ecological Safety and Balanced Use of Resources*. 2021. № 2(22). С. 83–91. URL: [https://doi.org/10.31471/2415-3184-2020-2\(22\)-83-91](https://doi.org/10.31471/2415-3184-2020-2(22)-83-91) (дата звернення: 22.01.2025).
2. Садченко А. О. Фізичні механізми впливу біологічно активних субстанцій на фазовий стан модельних фосфоліпідних мембран : thesis. 2016. URL: <http://dspace.univer.kharkov.ua/handle/123456789/13878> (дата звернення: 21.01.2025).
3. Іваненко І. М. Особливості SCFE [Електронний ресурс] / І. М. Іваненко // ВК Herb. — 2023. — Режим доступу: <https://uk.bkherb.com.html> (дата звернення: 21.01.2025 р.).
4. Петренко О. Дрони, біотехнології та робототехніка: чотири інноваційні технології, які допоможуть українському агросектору ставати ефективнішим / О. Петренко. — К.: Видавництво «Наукова думка», 2023. — 250 с. (дата звернення 22.01.2025)
5. Біосфера та роль зеленої хімії в харчуванні голодного світу: Біодеградація [Електронний ресурс]. – Режим доступу: [https://ukrayinska.libretexts.org/Хімія/Екологічна_хімія/Зелена_хімія_та_десять_заповідей_стійкості_\(Манахан\)/12:_Біосфера_та_роль_зеленої_хімії_в_харчуванні_голодного_світу/12.10:_Біодеградація.](https://ukrayinska.libretexts.org/Хімія/Екологічна_хімія/Зелена_хімія_та_десять_заповідей_стійкості_(Манахан)/12:_Біосфера_та_роль_зеленої_хімії_в_харчуванні_голодного_світу/12.10:_Біодеградація.) – (дата звернення: 04.01.2025).
6. ПІДВИЩЕННЯ ЯКОСТІ ПРОДУКЦІЇ ЯК ЧИННИК ЗРОСТАННЯ КОНКУРЕНТОЗДАТНОСТІ, ПІДВИЩЕННЯ РІВНЯ Й ЯКОСТІ ЖИТТЯ НАСЕЛЕННЯ ТА ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ЕКОНОМІЧНОЇ, СОЦІАЛЬНОЇ І ЕКОЛОГІЧНОЇ БЕЗПЕКИ / С. В. Кудлаєнко та ін. *Efektivna ekonomika*. 2024. № 7. URL: <https://doi.org/10.32702/2307-2105.2024.7.28> (дата-звернення 25.01.2025).

7. Tarabukin D.V. - Enzymatic Technologies of Directed Bioconversion of Cellulose - and Starch-Containing Plant Raw Materials: Dissertation for the Degree of Candidate of Biological Sciences. - Syktyvkar, 2009. - 112 p. (дата звернення 25.01.2024)
8. T.V. Meledina, P.E. Balanov, Textbook: Chemistry and Technology of Beer Wort, St. Petersburg, 2006, 159 p. (дата звернення 25.01.2025).
9. Pandey A., Nigam P., Soccol C. R. et al. // Biotechnol. Appl. Biochem. – 2000 – 31 – P. 135–152. (дата звернення 25.01.2025)
10. Докіпедія: ГОСТ Р 54330-2011 Ферментні препарати для харчової промисловості. Методи визначення амілолітичної активності (дата звернення 25.01.2025)
11. Інтернет енциклопедія [Електроний ресур].-Режим доступу до ресурсу:<https://ru.ruwiki.ru/wiki/Амилаза> (дата звернення 27.01.2025).
12. Вікіпедія – амілаза[Електроний ресур].-Режим доступу до ресурсу <https://ru.wikipedia.org/wiki/Амилаза> (дата звернення 27.01.2025).
13. Сайт заводу ENZIM Ладижин : <https://enzim.prom.ua/ua/p651486728-alfalad-alfa-amilaza.html> (дата звернення 30.01.2025).
14. (Koshland D. E. // Biol. Rev. – 1953 – 28 –P. 416–436.) (дата звернення 30.01.2025).
15. Van der Maarel M. J., van der Veen B., Uitdehaag J. C. et al. // J. Biotechnol. – 2002 – 94, N 2 – P. 137–155 (дата звернення 30.01.2025)
16. Reddy N. S., Nimmagadda A., Sambasiva Rao K. R. S. // Afr. J. Biotechnol. – 2003 –2, N 12 – P. 645–648.) (дата звернення 03.02.2025)
17. Uitdehaag J. C. M., van der Veen B. A., Dijkhuizen L., Dijkstra B. W. // Enzyme Microb. Technol. – 2002 – 30, N 3 – P. 295–304 (дата звернення 03.02.2025).
18. Kammoun R., Naili B., Bejar S. // Bioresour. Technol. – 2008 – 99, N 13 – P. 5602–5609 (дата звернення 03.02.2025).
19. Gupta R., Gigras P., Mohapatra H., Goswami V.K., Chauhan B. Microbial α -amylases: a biotechnological perspective. Process Biochemistry, 2003, 38(11):

1599-1616. ([https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(03\)00053-0](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(03)00053-0)) (дата звернення 03.02.2025).

20. Hmidet N., El-Hadj A.N., Haddar A., Kanoun S., Alya S., Nasri M. Alkaline proteases and thermostable α -amylase co-produced by *Bacillus licheniformis* NH1: Characterization and potential application as detergent additive. *Biochemical Engineering Journal*, 2009, 47: 71–79. (<https://doi.org/10.1016/j.bej.2009.07.005>) (дата звернення 05.02.2025).

21. Mitidieri S., Souza Martinelli A.H., Schrank A., Vainstein M.H. Enzymatic detergent formulation containing amylase from *Aspergillus niger*: a comparative study with commercial detergent formulations. *Bioresour Technol.*, 2006, 97: 1217-1224. (DOI:10.1016/j.biortech.2005.05.022) (дата звернення 05.02.2025).

22. Mukherjee A.K., Borah M., Raí S.K. To study the influence of different components of fermentable substrates on induction of extracellular α -amylase synthesis by *Bacillus subtilis* DM-03 in solid-state fermentation and exploration of feasibility for inclusion of α -amylase in laundry detergent formulations. *Biochem. Eng. J.*, 2009, 43: 149-156. DOI:10.1016/j.bej.2008.09.011) (дата звернення 05.02.2025).

23. Chi Z., Chi Z., Liu G., Wang F., Ju L., Zhang T. *Saccharomycopsis fibuligera* and its applications in biotechnology. *Biotechnol Adv.*, 2009, 27: 423-431. (DOI: 10.1016/j.biotechadv.2009.03.003) (дата звернення 05.02.2025).

24. Moraes L.M.P., Filho S.A., Ulhoa C.J. Purification and some properties of an α -amylase glucoamylase fusion protein from *Saccharomyces cerevisiae*. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 1999, 15: 561-564. (дата звернення 07.02.2025).

25. Oner E.T. Optimization of ethanol production from starch by an amylolytic nuclear petite *Saccharomyces cerevisiae* strain. *Yeast*, 2006, 23(12): 849-856. (<https://doi.org/10.1002/yea.1399>) (дата звернення 07.02.2025)

26. Sanchez O.J., Cardona C.A. Trends in biotechnological production of fuel ethanol from different feedstocks. *Bioresour Technol.*, 2008, 99: 5270-5295. (<https://doi.org/10.1002/yea.1399>) (дата звернення 07.02.2025)

27. Ahlawat S., Dhiman S.S., Battan B., Mandhan R.P., Sharma J. Pectinase production by *Bacillus subtilis* and its potential application in biopreparation of cotton

and micropoly fabric. *Process Biochemistry*, 2009, 44: 521-526. (<https://doi.org/10.1016/j.procbio.2009.01.003>) (дата звернення 07.02.2025).

28. Maarel M.J., Veen B., Uitdehaag J.C., Leemhuis H., Dijkhuizen L. Properties and applications of starch-converting enzymes of the alpha-amylase family. *J Biotechnol*, 2002, 94: 137-155. (DOI: 10.1016/s0168-1656(01)00407-2) (дата звернення 10.02.2025)

29. Bruinenberg P.M., Hulst A.C., Faber A., Voogd R.H. A process for surface sizing or coating of paper. In: *European Patent Application*, 1996. (дата звернення 10.02.2025).

30. Application of enzymes in bread baking [Electronic resource].-Access to the resource: <https://ssnab.ru/news/primenenie-fermentov-v-khlebopechenii/> (дата звернення 10.02.2025).

31. APPLICATION OF ENZYMES IN THE PRODUCTION OF FRUIT JUICE: REVIEW/ [Electronic resource].-Access to the resource: <https://naukaru.ru/ru/nauka/article/57544/view> (дата звернення 10.02.2025)

32. N.V. Meshcheryakov, Dissertation: "Isolation and Study of the Properties and Stability of α -Amylase from the Tissue Culture of *Rauwolfia serpentina* Benth" – 1999. (дата звернення 10.02.205).

33. Pandey A., Nigam P., Soccol C. R. et al. // *Biotechnol. Appl. Biochem.* – 2000 – 31 – P. 135–152. (дата звернення 12.02.2025).

34. Ікрам-ул-Нақ, Javed M. M., Nameed U. et al. // *Pak. J. Bot.* – 2010 – 42, N 5 – P. 3507– 3516 (дата звернення 12.02.2025)

35. Hmidet N., Maalej H., Haddar A. et al. // *Appl. Biochem. Biotechnol.* – 2010 – 162, N 4 – P. 1018–1030 (дата звернення 12.02.2025).

36. Al-Quadani F., Akel H., Natshi R. // *Ann. Microbiol.* – 2011 – 61, N 4 – P. 887–892. (дата звернення 13.02.2025).

37. Gangadharan D., Namroothiri K. M., Siva- ramakrishnan S. et al. // *Appl. Biochem. Biotechnol.* – 2008 – 158, N 3 – P. 653–662.(дата звернення 13.02.2025)

38. Варбанець Л. д., Мишак К. В., Мацелюх О. В.та ін. // *Мікробіол. журн.* – 2006 – 68, № 2 – С. 30–38. (дата звернення 15.02.2025).

39. Варбанець Л. д., Авдіюк К. В., борзова н. В. // Біотехнологія. – 2008 – 1, № 2 – С. 39–51 (дата звернення 15.02.2025).
40. Asgher M., Javaid Asad M., Rahman S.U. et al. // J. Food Eng. – 2007 – 79, N 3 – P.950–955 (дата звернення 15.02.2025).
41. Arikan B. // Bioresour. Technol. – 2008 – 99, N 8 – P. 4315–4320. (дата звернення 15.02.2025).
42. Talekar S., Patil J. // J. Cell Tissue Res. – 2012 – 12, N 1 – P. 3037–3042.(дата звернення 15.02.2025).
43. Haseltine C., Rolfsmeier M., Blum P. // J. Bacteriol. – 1996 – 178, N 4 – P. 945–950. (дата звернення 15.02.2025).
44. Prakash O., Jaiswal N. // Appl. Biochem. Biotechnol. – 2009 – 160, N 8 – P. 2401–2414 (дата звернення 17.02.2025).
45. Sivaramakrishnan S., Gangadharan D., Nampootheri K. M. et al. // Food Technol. Biotechnol. – 2006 – 44, N 2 – P. 173–184. (дата звернення 17.02.2025).
46. Liu X. D., Xu Y. // Bioresour. Technol. – 2008 – 99, N 10 – P. 4315–4320 (дата звернення 20.02.2025).
47. Yang H., Liu L., Li J. et al. // Microb. Cell Fact. – 2011 – 10 – P. 77–85.(дата звернення 20.02.2025).
48. Rao D. M., Swamy A. V .N., SivaRamaKrishna G. // Internet J. Genomics Proteomics. – 2007 –2, N 2 (дата звернення 22.02.2025).
49. Varalakshmi K. N., Kumudini B. S., Nandini B. N. et al. // Pol. J. Microbiol. – 2009 – 58, N 1 – P. 29–36. (дата звернення 22.02.2025).
50. Kiran Kumar V., Ravi Sankar N., Shailaja R. et al. // J. Cell Tissue Res. – 2011 – 11, N 2 – P. 2775–2780 (дата звернення 22.02.2025).
51. Padmini N. D., Bhattacharya S., Das A., Rajan S. S. // Ann. Biol. Resear. – 2012 – 3, N 8 – P. 4082–4090 (дата звернення 25.02.2025).
52. Варбанець Л. д., Авдіюк К. В., борзова н. В. та ін. // Мікробіол. журн. – 2009 – 71, № 3 – С. 3–10. (дата звернення 25.02.2025).
53. Metin K., Koc Ö., Ateslier Z. B. B., Biyik H. H. // Afr. J. Biotechnol. – 2010 – 9, N 45 – P. 7692–7701. (дата звернення 25.02.2025).

54. Galich, I. P. Amylases of Microorganisms. Kiev: Naukova Dumka, 1987. 192 p. (дата звернення 25.02.2025).
55. Valaparla V. K. // Int. J. Biotechnol. Biochem. – 2010 – 6, N 1 – P. 25–34. (дата звернення 27.02.2025).
56. Stamford T. L. M., Stamford N. P., Coelho L. C. V. B., Araújo J. M. // Bioresour. Technol. – 2001 – 76, N 2 – P. 137–141 (дата звернення 27.02.2025).
57. Saxena R. K., Dutt K., Agarwal L., Nayyar P. // Bioresour. Technol. – 2007 – 98, N 2 – P. 260–265 (дата звернення 27.02.2025).
58. Yang C., Liu W. // Enzyme Microb. Technol. – 2004 – 35, N 2–3. – P. 254–260 (дата звернення 27.02.2025).
59. Rao K. S., Ellaiah P., Biradar K. V. // RGUHS J. Pharm. Sci. – 2012 – 2, N 1 – P. 83–89. (дата звернення 01.03.2025).
60. Abe A., Topozuka T., Sakano Y., Kamitori S. // J. Mol. Biol. – 2004 – 335, N 3 – P. 811–822 (дата звернення 01.03.2025).
61. Iefuji H., Chino M., Kato M., Iimura Y. // Biochem. J. – 1996 – 318 – P. 989–996. (дата звернення 01.03.2025).
62. Hasan K., Ismaya W. T., Kardi I. et al. // Biologia. – 2008 – 63, N 6 – P. 1044–1050 (дата звернення 01.03.2025).
63. Hay bacillus (Latin Bacillus subtilis) is a type of gram—positive spore-forming facultatively aerobic soil bacteria. [Electronic resource].-Resource access mode:: [https:// bacillussubtilis](https://bacillussubtilis) (дата звернення 03.03.2025).
64. Pavlova I. N., Kichakova N. A., Zakharova I. Ya. Thermostable Amylases of the Bacillus sp. Strain. // Methods of Production, Analysis, and Application of Enzymes. — Riga, 1990. — P. 34. (дата звернення 03.03.2025).
65. M. S. Mosichev, A. A. Skladnev, and B. B. Kotov, Kiev: Legkaya i Pishchevaya Promyshlennost, 1982 (дата звернення 03.03.2025).
66. Бульйон м'ясо-пептонний на основі м'яса яловичого, 400мл, НИЦФ (058104), фл. [Електроний ресур].-Режим доступу до ресурсу : <https://www.agat.ru/catalog/260/3445/?ysclid=m7ln4au32104470798>-(дата звернення 03.03.2025)

67. Поживний бульйон- [Електроний ресур].-Режим доступу до ресурсу: <https://shop.hlr.ua/ua/bulon-pitatelnyu-suhoy-farmaktiv-185185.htm>(дата звернення 05.03.2025).

68. Петритест - [Електроний ресур].-Режим доступу до ресурсу: <https://petritest.ru/sprav/labinskaya-obshchaya-i-sanitarnaya-mikrobiologiya/8-retsepty-pitatelnykh-sred-dlya-sanitarno-bakteriologicheskikh-issledovaniy> (дата звернення 07.03.2025).

69. Бульйон м'ясо-пептонний з додаванням 1% глюкози [Електроний ресур] . - Режим доступу до ресурсу : https://docs.nevacert.ru/files/med_reestr_v2/75681 (дата звернення 10.03.2025).

70. Живильні середовища. Класифікація їх за призначенням, походженням, складом. Основні вимоги до живильних середовищ [Електроний ресур].-Режим доступу до ресурсу: <http://um.co.ua/8/8-15/8-153472.html> (дата звернення 12.03.2025).

71. Агар Чапека – Докса : [Електроний ресур]-Режим доступу до ресурсу:https://docviewer.yandex.ru/view/1703350580/?page=1&*=EHW5Rx7Yd4LUuvEXnHbIBZIDjKd7InVybcI6Imh0dHBzOi8vbWljcm8tbGFilM9yZy93cC1 (дата звернення 13.03.2025).

72. Агар Чапека – Докса : [Електроний ресур]-Режим доступу до ресурсу: http://agar.com.ua/AGAR_CZAPEK_DOX_250 (дата звернення 16.03.2025).

73. Justification of the expediency of using biotechnological methods in the production of amylases. [Electronic resource]. Access to the resource: https://studbooks.net/2489348/tovarovedenie/obosnovanie_tselesoobraznosti_ispolzovaniya_biotehnologicheskij_priemov_proizvodstve_amilaz (дата звернення 18.03.2025).

74. Section 25. Basic nutritional requirements of cells. . [Electronic resource]. <https://studfile.net/preview/16701245/page:18/> (дата звернення 20.03.2025).

75. E.Yu. Demyantseva, A.V. Parfenova "METHODS OF ENZYME INCAPSULATION", educational and methodological guide – 2018, p. – 13 (дата звернення 23.03.025)

76. Technology of obtaining enzymes from microorganisms: [Electronic resource].-Access to the resource: <https://studfile.net/preview/9708697/page:32/> (дата звернення 25.03.2025).

77. М. С. Мосичев, А. А. Складнев, В. Б. Котов Київ,: "Легка та харчова промисловість ", 1982 (дата звернення 27.03.2025).

78. Features of the latest technologies for the production of enzyme preparations: amylases, proteases, lipases, lactases, and glucoxidases 1 part - online presentation [Electronic resource].-Access to the resource: <https://ppt-online.org/187829> (01.04.2025).

79. E.A. Kuznetsova L.V. Cherepnina ENZYMES: STRUCTURE, PROPERTIES AND APPLICATION – 2013, с. – 68 (03.04.2025).

80. Slepian L.I., Rakhmanina T.F., Aleksandrovich D.G. Patent "METHOD FOR ISOLATING AN ENZYME COMPLEX FROM CULTURED PLANT CELLS", 1995. (дата звернення 05.04.2025).

81. Enzymes of microbiological origin. <https://helpiks.org/1-127512.html> (дата звернення 06.04.2025).

82. Новіков В., Сидоров Ю., Швед О. Тенденції розвитку комерційної біотехнології // Вісн. НАН України. — 2008. — № 2. — С. 25—39. (дата звернення 07.04.2025)

83. Analytical Reviews Market of Enzymes: Domestic Production Less Than 10% // Business of Food Ingredients 2011. (дата звернення 10.04.2025).

84. Express analysis of foreign economic activity in the market of 'enzymes [ferments]; enzyme preparations not otherwise specified // Industrial News Agency. — 2001—2013. — [http:// www.apn-ua.com/exim/524](http://www.apn-ua.com/exim/524) (дата звернення 12.04.2025).

85. ООО “БІ-А-ХІМ”. О компании // БІ-А-ХІМ. — <http://biakhim.com.ua/> (дата звернення 13.04.2025).

86. Біовак Україна // Бізнес-Гід. — <http://biochem.bizgid/> (дата звернення 14.04.2025)
87. Реєстр санітарно-епідеміологічних висновків // Нормативно-директивні документи МОЗ України. (дата звернення 15.10.2025).
88. Компанія Вудгофф: наші партнери // Woodhoff Ltd. — 2011. — <http://woodhoff.com/partners/> (дата звернення 22.10.2025).
89. Profiles of Leading Enzyme Manufacturers // Abercade Research Company. 2010. — <http://abercade.ru/research/analysis/5284.html> (дата звернення 23.10.2025).
90. Пріоритети політики імпортозаміщення у стратегії модернізації промисловості України. — К.: НІСД, 2012. — 71 с. (дата звернення 23.10.2025).
91. Market forecast for enzyme preparations // Abercade Research Company. — 2010. — <http://abercade./research/industrynews/5599.html> (accessed on 25.04.2013). (дата звернення 25.10.2025).
92. Structure of enzyme preparations consumption in the food industry // Research company “Abercade”. — 2010. — <http://abercade./research/industrynews/9104.html> (дата звернення 28.10.2025).
93. ЕНЗИМ: Ладизинський завод біо- та ферментних препаратів: наша продукція // Ензим — завод біо- та ферментних препаратів. — 2012. — <http://enzyme.com.ua> (дата звернення 30.10.2025).
94. Дніпровская Асоціація-К: продукція // ООО “Дніпровська Асоціація-К”. — 2011. — <http://star-k.com.ua/index.php> (дата звернення 30.10.2025).
95. Підприємства//Укрспирто<http://www.c2n.info/registration/index.php?id=2921> (дата звернення 30.10.2025).
96. Microbiological studies of meat [Electronic resource].-Access to the resource: <https://studfile.net/preview/1155339/page:2/> (дата звернення 01.11.2025).
97. О.М. Кананихіна, к.т.н., доцент , Конспект лекцій з дисципліни «Біохімія з основами фізіології харчування», Одеса ОНАХТ 2021 (дата звернення 01.11.2025).

98. Biochemistry: Pentose phosphate pathway of glucose conversion [Electronic resource].-Access mode to the resource: <https://web.archive.org/> (дата звернення 03.11.2025).

99. Lecture: Pentose Phosphate Path [Electronic resource].-Access to the resource:<https://biokhimija./uglevody/lektsiya-pfp-regulyatsiya-sd.html#2-etap-strukturnykh-perestroek> (дата звернення 03.11.2025).

100. Spirin A. S. S72 Molecular biology: Ribosome structure and protein biosynthesis: Textbook for students of biol. spec. universities. —M.: Higher School, 1986.- 303 p. (дата звернення 03.11.2025)

101. Automatic filling machine for cans [Electronic resource].-Access to the resource: <http://ztpackingmachine.ru/1-3-3-automatic-drum-filler/228161/> (дата звернення 05.11.2025).

102. Офіційний сайт Ладижинського заводу біопрепаратів «Ензим». URL.: <https://enzim.ua/index.php> (дата звернення 15.10.2025)

103. Л.Д. Варбанець, К.В. Авдіюк, Н.В. Борзова. Мікробні α амілази: виділення, властивості, практичне застосування. 2008. Біотехнологія. Том 1. №2. С.39-51.(дата звернення 17.10.2025).

104. Вершиніна К. Ю. – 2020 рік – Дипломний проєкт на здобуття ступеня бакалавра за освітньо-професійною програмою «Промислова біотехнологія» спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» на тему: «Технологія виробництва альфа-амілази. Дільниця біосинтезу» (дата звернення 05.11.2025).

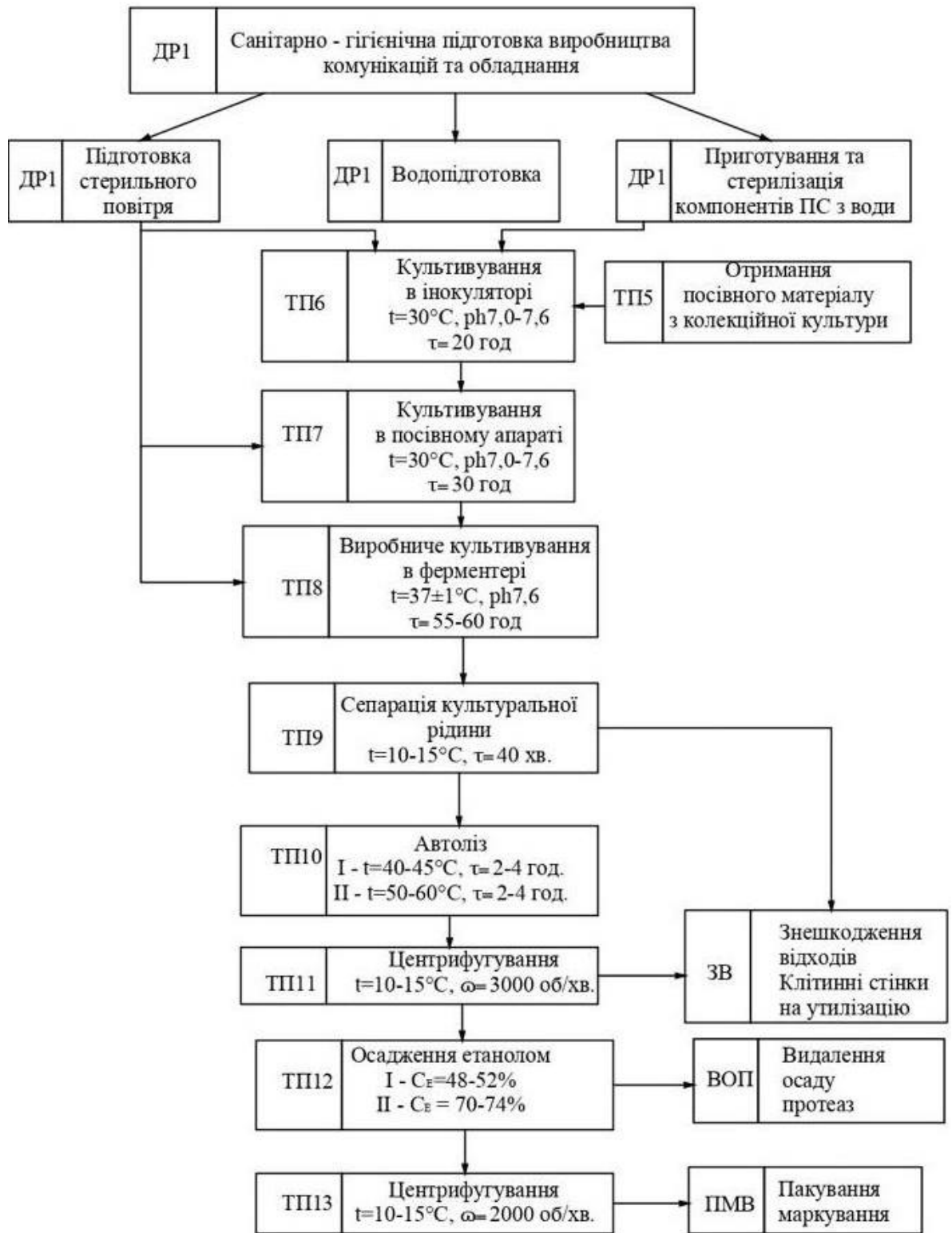
105. Журомський Є. О – 2023 рік – Дипломний проєкт на здобуття ступеня бакалавра за освітньо-професійною програмою «Біотехнології» спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» на тему: «Технологія виробництва субстанції L-аргініну. Дільниця стерилізації поживного середовища» (дата звернення 07.11.2025)

106. Про затвердження Правил охорони поверхневих вод від забруднення зворотними водами : Постанова Каб. Міністрів України від 25.03.1999 р. №

465 : станом на 30 жовт. 2013 р. URL: [https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/465 99-](https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/465_99)
(дата звернення: 04.06.2023). (дата звернення 07.11.2025).

107. ДСП 201-97 Державні санітарні правила охорони атмосферного повітря населених місць (від забруднення хімічними та біологічними речовинами). [Чинний від 2000-02-23]. Київ, 1997. 12 с. (дата звернення 07.11.2025)

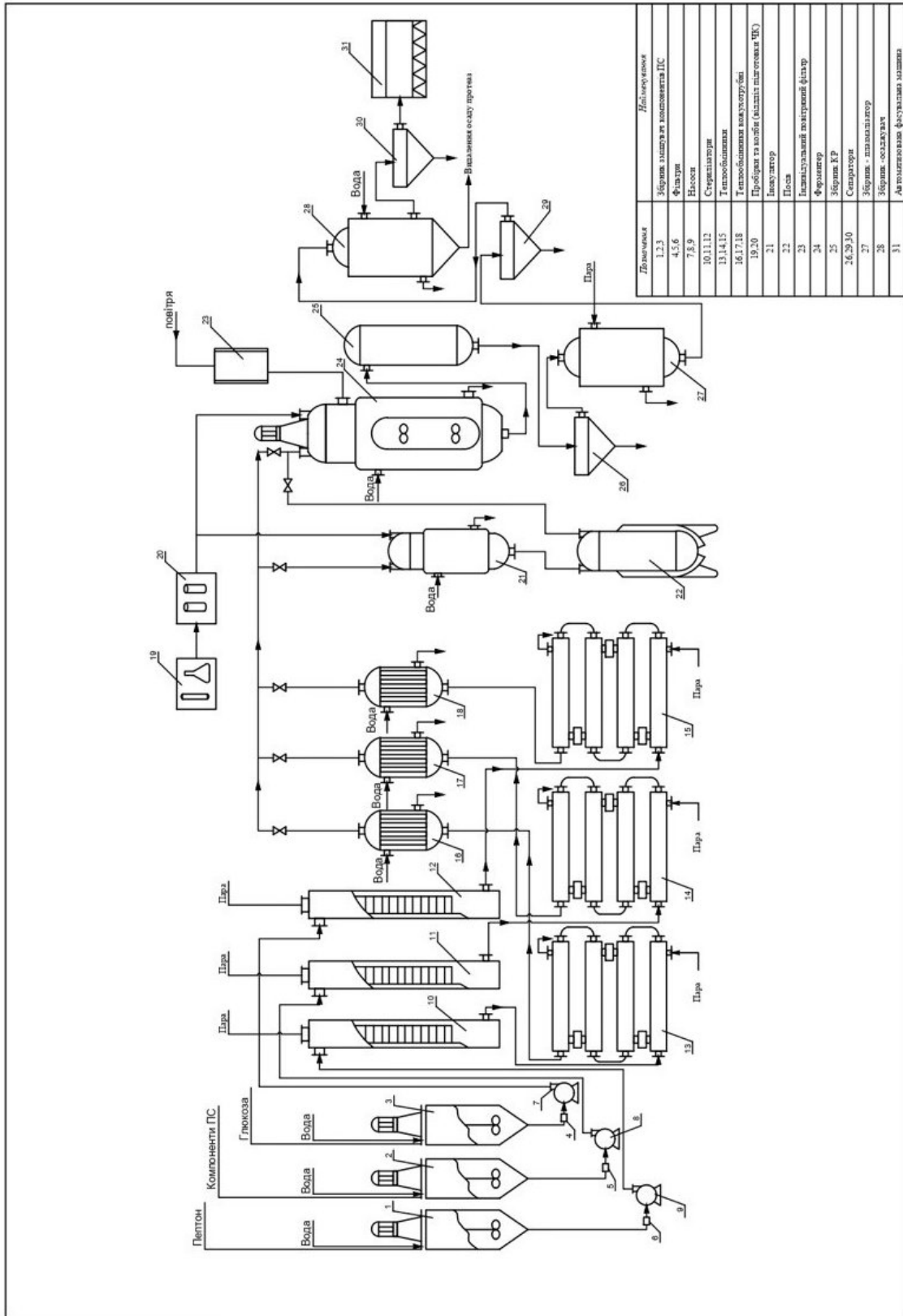
ДОДАТОК А
Постадійна схема технології отримання α -амілази з *B.subtilis*



					<i>КРБ.ХХЕ та Б 1. 543-03.3.1</i>			
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	Удосконалення біотехнології α-амілази	Літ.	Арк.	Акрушів
Розробив		Кідакова Д.В.	ПІДПИСАНО	10.12.25			1	4
Керівник		Швець Н.О.	ПІДПИСАНО	10.12.25				
Зав.каф.		Капустян А.І.	ПІДПИСАНО	10.12.25				
					ОНТУ- 2025			

ДОДАТОК Б

Апаратурна схема технології



КРБ.ХХЕ та Б 1. 543-03.3.1

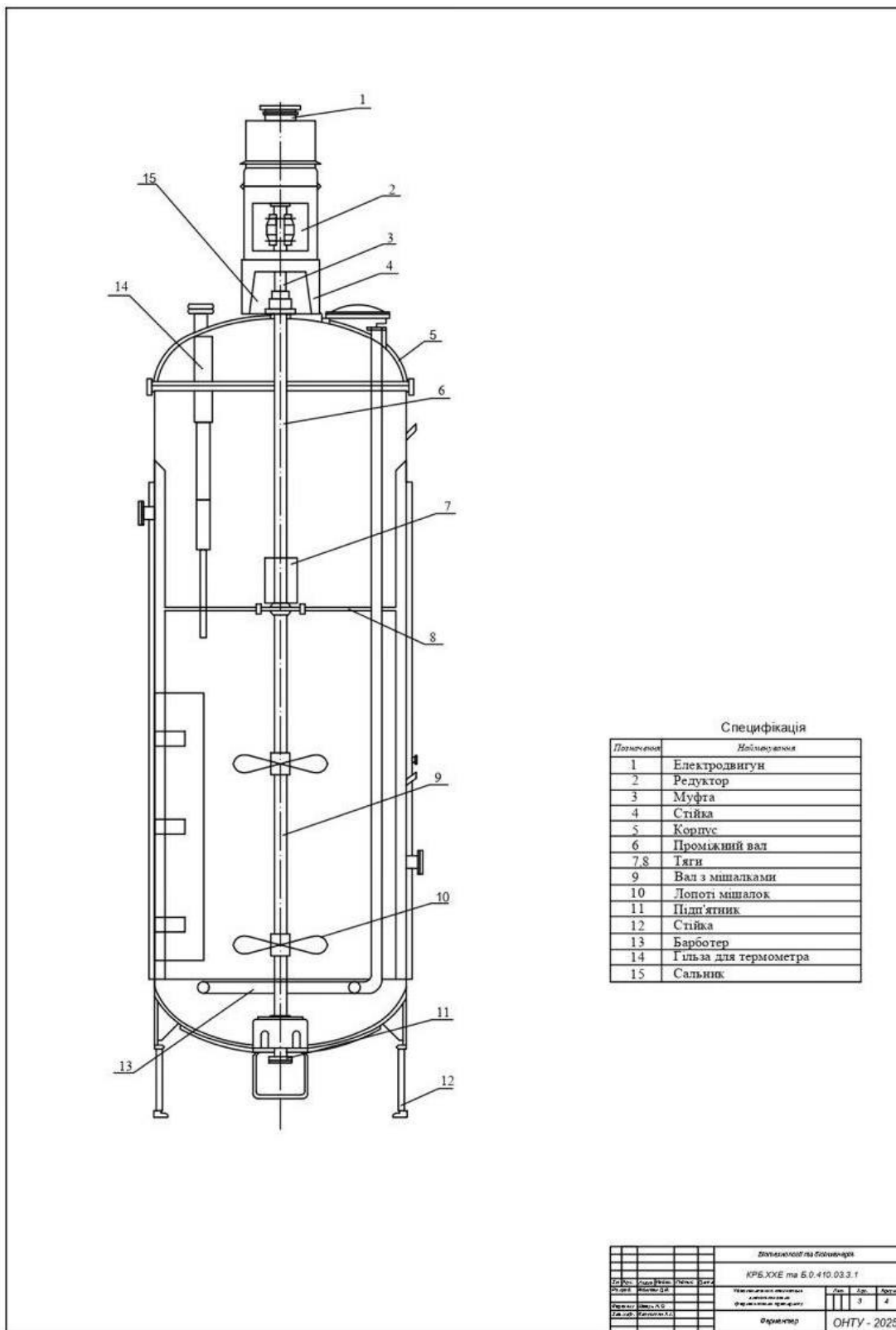
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата
Розробив	Арк.	№ докум.	Підписано	10.12.25
Керівник	Швець Н.О.		Підписано	10.12.25
Зав.каф.	Капустян А.І.		Підписано	10.12.25

Апаратурна схема

Літ.	Арк.	Аркушів
	2	4
ОНТУ- 2025		

ДОДАТОК В

Основні апарати, що застосовуються у технології



Позначення	Найменування
1	Електродвигун
2	Редуктор
3	Муфта
4	Стойка
5	Корпус
6	Проміжний вал
7,8	Тяги
9	Вал з мішалками
10	Лопаті мішалок
11	Під'ячник
12	Стойка
13	Барботер
14	Гільза для термометра
15	Сальник

Затверджено на боковині			
КРБ.ХХЕ та Б.0.410.03.3.1			
Ділянка	Розробник	Виконав	Затвердив
01	Кідакова Д.В.	Швець Н.О.	Капустян А.І.
02	03	04	05
06	07	08	09
10	11	12	13
14	15	16	17
18	19	20	21
22	23	24	25
26	27	28	29
30	31	32	33
34	35	36	37
38	39	40	41
42	43	44	45
46	47	48	49
50	51	52	53
54	55	56	57
58	59	60	61
62	63	64	65
66	67	68	69
70	71	72	73
74	75	76	77
78	79	80	81
82	83	84	85
86	87	88	89
90	91	92	93
94	95	96	97
98	99	100	101
102	103	104	105
106	107	108	109
110	111	112	113
114	115	116	117
118	119	120	121
122	123	124	125
126	127	128	129
130	131	132	133
134	135	136	137
138	139	140	141
142	143	144	145
146	147	148	149
150	151	152	153
154	155	156	157
158	159	160	161
162	163	164	165
166	167	168	169
170	171	172	173
174	175	176	177
178	179	180	181
182	183	184	185
186	187	188	189
190	191	192	193
194	195	196	197
198	199	200	201
202	203	204	205
206	207	208	209
210	211	212	213
214	215	216	217
218	219	220	221
222	223	224	225
226	227	228	229
230	231	232	233
234	235	236	237
238	239	240	241
242	243	244	245
246	247	248	249
250	251	252	253
254	255	256	257
258	259	260	261
262	263	264	265
266	267	268	269
270	271	272	273
274	275	276	277
278	279	280	281
282	283	284	285
286	287	288	289
290	291	292	293
294	295	296	297
298	299	300	301
302	303	304	305
306	307	308	309
310	311	312	313
314	315	316	317
318	319	320	321
322	323	324	325
326	327	328	329
330	331	332	333
334	335	336	337
338	339	340	341
342	343	344	345
346	347	348	349
350	351	352	353
354	355	356	357
358	359	360	361
362	363	364	365
366	367	368	369
370	371	372	373
374	375	376	377
378	379	380	381
382	383	384	385
386	387	388	389
390	391	392	393
394	395	396	397
398	399	400	401
402	403	404	405
406	407	408	409
410	411	412	413
414	415	416	417
418	419	420	421
422	423	424	425
426	427	428	429
430	431	432	433
434	435	436	437
438	439	440	441
442	443	444	445
446	447	448	449
450	451	452	453
454	455	456	457
458	459	460	461
462	463	464	465
466	467	468	469
470	471	472	473
474	475	476	477
478	479	480	481
482	483	484	485
486	487	488	489
490	491	492	493
494	495	496	497
498	499	500	501
502	503	504	505
506	507	508	509
510	511	512	513
514	515	516	517
518	519	520	521
522	523	524	525
526	527	528	529
530	531	532	533
534	535	536	537
538	539	540	541
542	543	544	545
546	547	548	549
550	551	552	553
554	555	556	557
558	559	560	561
562	563	564	565
566	567	568	569
570	571	572	573
574	575	576	577
578	579	580	581
582	583	584	585
586	587	588	589
590	591	592	593
594	595	596	597
598	599	600	601
602	603	604	605
606	607	608	609
610	611	612	613
614	615	616	617
618	619	620	621
622	623	624	625
626	627	628	629
630	631	632	633
634	635	636	637
638	639	640	641
642	643	644	645
646	647	648	649
650	651	652	653
654	655	656	657
658	659	660	661
662	663	664	665
666	667	668	669
670	671	672	673
674	675	676	677
678	679	680	681
682	683	684	685
686	687	688	689
690	691	692	693
694	695	696	697
698	699	700	701
702	703	704	705
706	707	708	709
710	711	712	713
714	715	716	717
718	719	720	721
722	723	724	725
726	727	728	729
730	731	732	733
734	735	736	737
738	739	740	741
742	743	744	745
746	747	748	749
750	751	752	753
754	755	756	757
758	759	760	761
762	763	764	765
766	767	768	769
770	771	772	773
774	775	776	777
778	779	780	781
782	783	784	785
786	787	788	789
790	791	792	793
794	795	796	797
798	799	800	801
802	803	804	805
806	807	808	809
810	811	812	813
814	815	816	817
818	819	820	821
822	823	824	825
826	827	828	829
830	831	832	833
834	835	836	837
838	839	840	841
842	843	844	845
846	847	848	849
850	851	852	853
854	855	856	857
858	859	860	861
862	863	864	865
866	867	868	869
870	871	872	873
874	875	876	877
878	879	880	881
882	883	884	885
886	887	888	889
890	891	892	893
894	895	896	897
898	899	900	901
902	903	904	905
906	907	908	909
910	911	912	913
914	915	916	917
918	919	920	921
922	923	924	925
926	927	928	929
930	931	932	933
934	935	936	937
938	939	940	941
942	943	944	945
946	947	948	949
950	951	952	953
954	955	956	957
958	959	960	961
962	963	964	965
966	967	968	969
970	971	972	973
974	975	976	977
978	979	980	981
982	983	984	985
986	987	988	989
990	991	992	993
994	995	996	997
998	999	1000	1001

Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата
Розробив		Кідакова Д.В.	ПІДПИСАНО	10.12.25
Керівник		Швець Н.О.	ПІДПИСАНО	10.12.25
Зав.каф.		Капустян А.І.	ПІДПИСАНО	10.12.25

КРБ.ХХЕ та Б 1. 543-03.3.1

Ферментер

Літ.	Арк.	Акрушів
	3	4
ОНТУ- 2025		

ДОДАТОК Г
ЗВЕДЕНІ РЕЗУЛЬТАТИ ЕКОНОМІЧНИХ РОЗРАХУНКІВ

	Найменування показників	Значення показників
1	Виробнича потужність, тонн	25000
2	Річний обсяг виробництва, тонн	20000
3	Обсяг виробленої продукції, тис. тонн	3678000
4	Собівартість виробленої продукції, тис. грн.	3280000
5	Прибуток, тис. грн.	398000
6	Чистий прибуток, тис.грн	326360
7	Чисельність працюючих, людей	25
8	Середньорічний виробіток одного працівника, тис.грн./особу	147120
9	Інвестиції, тис.грн.	1109624
10	Термін окупності інвестицій, років	3,4

					<i>КРБ.ХХЕ та Б 1. 543-03.3.1</i>			
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>	<i>Зведення результатів економічних розрахунків</i>	<i>Літ.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Акрушів</i>
<i>Розробив</i>		Кідакова Д.В.	ПІДПИСАНО	10.12.25			4	4
<i>Керівник</i>		Швець Н.О.	ПІДПИСАНО	10.12.25				
<i>Зав.каф.</i>		Капустян А.І.	ПІДПИСАНО	10.12.25				
						ОНТУ- 2025		