

Міністерство освіти і науки України
Одеський національний технологічний університет
Факультет експертизи, біотехнології, харчової інженерії, підприємництва та торгівлі
Кафедра харчової хімії, експертизи та біотехнологій
Ступінь вищої освіти «Бакалавр»
Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»
Освітня програма «Біотехнології та біоінженерія»



ПОЯСНЮВАЛЬНА ЗАПИСКА ДО КВАЛІФІКАЦІЙНОЇ РОБОТИ

на тему:

**Удосконалення технології гідролітичного ферментного препарату з
протеолітичною активністю**

Здобувачки

4 курсу

Керівник:

Консультант:

Цушко К.А.

(прізвище та ініціали студента)

групи БІО - 48

к.т.н., доцент Кананихіна О.М.

(посада, прізвище та ініціали)

професор Самофатова В.А.

(посада, прізвище та ініціали)

Кваліфікаційна робота допускається до захисту

Рішення кафедри від 05 червня 2024 р., протокол № 9

Завідувачка кафедри ХХЕтаБ _____

(підпис)

Антоніна КАПУСТЯН

(Ім'я ПРІЗВИЩЕ)

Одеса – 2024 рік

Одеський національний технологічний університет

(повне найменування вищого навчального закладу)

Факультет Експертизи, біотехнології, харчової інженерії, підприємництва та торгівлі

Кафедра Харчової хімії, експертизи та біотехнологій

Ступінь вищої освіти Бакалавр

Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»

Освітня програма «Біотехнології та біоінженерія»

ЗАТВЕРДЖУЮ

зав. кафедри ХХЕтаБ

д.т.н., проф. Капустян А.І.

(підпис)

« _____ »

2024 р.

**З А В Д А Н Н Я
НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА**

Цушко Катерини Андріївни

(прізвище, ім'я та по батькові)

1. Тема роботи: Удосконалення технології гідролітичного ферментного препарату з протеолітичною активністю

затверджена наказом ОНТУ від 21.09.2023 р. №535-03

2. Термін здачі здобувачем закінченої роботи 01.06.2024 р.

3. Вихідні дані роботи

Об'єкт дослідження: технологія гідролітичного ферментного препарату з протеолітичною активністю

Предмет дослідження: наукова література, продуценти, поживні середовища, технологія, принципи охорони праці на підприємстві, економічні показники проекту.

4. Перелік питань, які потрібно розробити

Вступ

Розділ 1 Огляд літератури

Розділ 2 Техніко-економічне обґрунтування технології

Розділ 3 Технологія отримання лужної протеази

Розділ 4 Продуктовий розрахунок і матеріальний баланс біосинтезу

Розділ 5 Охорона праці та довкілля

Розділ 6 Оцінка економічної ефективності впровадження удосконаленої технології

Висновки

Список використаних джерел

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

Постадійна схема технології отримання лужної протеази

Апаратурна схема виробництва протеази

Основні апарати, що застосовані у технології

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

| Розділ | Консультант | Підпис, дата | |
|--|-----------------|----------------|------------------|
| | | Завдання видав | Завдання прийняв |
| Розділ 5 Оцінка економічної ефективності впровадження удосконаленої технології | Самофатова В.А. | | |

7. Дата видачі завдання «02» лютого 2024 року

Керівник _____ Олена КАНАНИХІНА

(підпис)

Завдання прийняв до виконання _____ Катерина ЦУШКО

(підпис)

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

| № з/п | Назва етапів кваліфікаційної роботи | Термін виконання етапів роботи | Примітка |
|---|--|--------------------------------|----------------|
| Підготування пояснювальної записки | | | |
| 1 | Вступ | 09.02.2024 | Виконала |
| 2 | РОЗДІЛ 1 Огляд літератури | 17.03.2024 | Виконала |
| 3 | РОЗДІЛ 2 Техніко – економічне обґрунтування технології | 10.04.2024 | Виконала |
| 4 | РОЗДІЛ 3 Технологія отримання лужної протеази | 19.04.2024 | Виконала |
| 5 | РОЗДІЛ 4 Продуктовий розрахунок і матеріальний баланс біосинтезу | 11.05.2024 | Виконала |
| 6 | РОЗДІЛ 5 Охорона праці та довкілля | 22.05.2024 | Виконала |
| 7 | РОЗДІЛ 6 Оцінка економічної ефективності впровадження удосконаленої технології | 26.05.2024 | Виконала |
| 8 | Висновки | 01.06.2024 | Виконала |
| Підготування графічного матеріалу | | | |
| 9 | Постадійна схема технології отримання лужної протеази | 21.04.2024 | Виконала |
| 10 | Апаратурна схема виробництва протеази | 28.04.2024 | Виконала |
| 11 | Ферментер | 12.05.2024 | Виконала |
| 12 | Схема сушарки | 17.05.2024 | Виконала |
| 13 | Оформлення роботи | 01.06.2024 | Виконала |
| 14 | <i>Термін подання роботи на кафедру</i> | 12.06.2024 | Виконала |
| 15 | <i>Зовнішнє рецензування</i> | 13.06.2024 | Виконала |
| 16 | <i>Захист кваліфікаційної роботи</i> | 20.06.2024 | Згідно графіку |

Здобувач-дипломник _____

(підпис)

Катерина ЦУШКО

(прізвище та ініціали)

Керівник роботи _____

(підпис)

Олена КАНАНИХІНА

(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.

Здобувач-дипломник _____ Катерина ЦУШКО

АНОТАЦІЯ

Тема: «Удосконалення технології гідролітичного ферментного препарату з протеолітичною активністю»

Спеціальність: 162 «Біотехнології та біоінженерія»

Освітня програма: Біотехнології та біоінженерія

Здобувач СВО «Бакалавр»: Цушко Катерина Андріївна

Керівник: доц. Кананихіна Олена Миколаївнана

Ключові слова: біотехнологія, гідролітичні ферментні препарати з протеолітичною активністю

Актуальність: Лужна протеаза, що каталізує гідроліз пептидних зв'язків білкових сполук до пептидів та амінокислот, становить інтерес для вирішення проблеми забезпечення високоякісної обробки біологічних субстратів у різних промислових галузях, таких як харчова, фармацевтична, кормова промисловість, а також лужна протеаза може бути корисною у вирішенні проблем ефективності обробки відходів та біомаси, що сприяє розвитку біореакторних технологій та створенню екологічно чистих процесів переробки. Тому вдосконалення технології одержання активної лужної протеази є актуальним завданням, що має прикладний характер.

Мета: Вдосконалення біотехнології одержання ферментного препарату із протеазною активністю шляхом культивування штаму *Bacillus licheniformis-O55* на оновленому поживному середовищі, корегуванні параметрів процесу культивування та застосуванні сучасного методу фільтрації для очищення.

Завдання роботи :

Об'єкт дослідження: Технологія гідролітичного ферментного препарату з протеолітичною активністю

Предмет дослідження: Зроблено аналіз наукової літератури щодо виробництва протеолітичних ферментів, продуцентів цих ферментів та способів їх культивування. Зроблено аналіз поживних середовищ, індукторів та інших умов синтезу даного типу ферментів. Здійснено продуктивний розрахунок та матеріальний баланс на один цикл ферментації, підібрано необхідне обладнання. Описана технологічна схема удосконаленої технології. Описані принципи охорони праці на підприємстві, розраховано економічні показники та проведено аналіз інвестиційної привабливості проєкту.

Дипломний проєкт представлено пояснювальною запискою та графічною частиною.

Робота обсягом 99 сторінок складається із вступу, 6 розділів, загальних висновків, списку використаних літературних джерел, що включає 96 найменувань (8 сторінок), 12 рисунків, 14 таблиць та додатків (5 сторінок).

Зміст

| | |
|--|----------|
| ВСТУП | стр 6 |
| РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ | 8 |
| 1.1 Значення протеаз у народному господарстві | 8 |
| 1.2 Класифікація, особливості будови та механізм дії протеаз на субстрат | 9 |
| 1.3 Методи отримання лужних протеаз | 21 |
| 1.4 Основні сфери застосування лужної протеази | 24 |
| РОЗДІЛ 2 ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ ТЕХНОЛОГІЇ | 27 |
| 2.1 Виробництво ферментів в Україні та потреба на ринку лужних протеаз | 27 |
| 2.2 Обґрунтування вибору технологічної схеми виробництва | 29 |
| 2.3 Обґрунтування вибору біологічного агенту | 32 |
| РОЗДІЛ 3 ТЕХНОЛОГІЯ ОТРИМАННЯ ЛУЖНОЇ ПРОТЕАЗИ | 35 |
| 3.1 Характеристика кінцевої продукції виробництва | 35 |
| 3.2 Біосинтез ферментів лужної протеази та вплив основних факторів і параметрів на цей процес | 36 |
| РОЗДІЛ 4 ПРОДУКТОВИЙ РОЗРАХУНОК І МАТЕРІАЛЬНИЙ БАЛАНС БІОСИНТЕЗУ | 45 |
| 4.1 Продуктовий розрахунок виробництва ФП лужна протеаза Г10Х потужністю 10 умов. тон на рік | 45 |
| 4.2 Матеріальний баланс на одну ферментацію (партію) | 52 |
| 4.3 Розрахунок технологічного обладнання | 55 |
| 4.4 Зведена таблиця результатів розрахунку | 57 |
| 4.5 Наукові дослідження | 58 |
| 4.6 Викладення удосконаленого технологічного процесу отримання лужної протеази продуцентом <i>Bacillus licheniformis</i> (загальні вимоги) | 63 |
| 4.7 Схема постадійного контролю біосинтезу лужної протеази Г10Х <i>Bacillus licheniformis</i> | 69 |
| РОЗДІЛ 5 ОХОРОНА ПРАЦІ ТА ДОВКІЛЛЯ | 71 |
| РОЗДІЛ 6 ОЦІНКА ЕКОНОМІЧНОЇ ЕФЕКТИВНОСТІ ВПРОВАДЖЕННЯ УДОСКОНАЛЕНОЇ ТЕХНОЛОГІЇ | 74 |
| ВИСНОВКИ | 86 |
| СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ | 87 |
| Додаток А Постадійна технологічна схема отримання ферментного препарату | 95 |
| Додаток Б Апаратурна схема удосконаленої технології отримання ферментного препарату лужної протеази з <i>Bac. licheniformis</i> | 96 |
| Додаток В Специфікація обладнання | 97 |
| Додаток Г Ферментер | 98 |
| Додаток Д Сушарка | 99 |

| | | | | |
|---|----------------|----------|--------|---------|
| КРБ.ХХЕтаБ.1.535-03.1.3 | | | | |
| Зм. | Аркуш | № докум. | Підпис | Дата |
| Розроб. | Цушко К.А. | | | |
| Керівник | Кананихіна О.М | | | |
| Керівник | Самофатова В.А | | | |
| Зав.кафедр | Капустян А.І. | | | |
| Удосконалення технології гідролітичного ферментного препарату з протеолітичною активністю | | | | |
| | | Лім. | Аркуш | Аркушів |
| | | 5 | 99 | |
| ОНТУ 2024 | | | | |

ВСТУП

Україна, як аграрна держава, залежить від розвитку сільського господарства. Один із ключових аспектів цього розвитку - це забезпечення високоякісним та ефективним кормом для тваринного виробництва. В останні роки досягнення біотехнології стали важливим інструментом у поліпшенні кормової бази, сприяючи зростанню врожайності та якості кормів.

Досягнення біотехнології можна розглядати як спосіб оптимізації виготовлення силосу і введення біологічно активних речовин в кормові добавки.

Раніше більшість сільськогосподарських підприємств та фермерських господарств не вводили в раціони тварин біологічно активні речовини, з причин економії та не збільшення витрат на кормову складову у собівартості тваринницької продукції. Організм тварини і птиці, особливо дорослої, здатний деякий час компенсувати нестачу біологічно активних речовин корму. Проте вже через декілька тижнів можна спостерігати зменшення продуктивності тварин і птиці, а в багатьох випадках – виникнення специфічних хвороб.

Останнім часом особлива увага приділяється розробці пробіотичних та ферментних кормових продуктів. Ферментно-пробіотичний комплекс забезпечує полівекторну дію в травному каналі загалом та рубці зокрема. Біологічно активні речовини виконують роль каталізаторів обмінних процесів і збільшують коефіцієнти перетравлення та засвоєння поживних речовин корму.

Протеази дозволяють тваринам краще засвоювати білкові речовини з кормів. Ферменти розріджують хімус, чим полегшують його проходження по кишечнику. Це особливо важливо для тварин з високою потребою у білках, таких як свині, птиці та риби.

Практичний досвід показує, що приріст худоби значно більший при використанні якісного комбікорму з використанням протеаз, ніж без додавання додаткових ферментів [1].

Лужна протеаза становить інтерес для вирішення проблеми забезпечення високоякісної обробки біологічних субстратів у різних промислових галузях, таких як харчова, фармацевтична, кормова промисловість, а також лужна

протеаза може бути корисною у вирішенні проблем ефективності обробки відходів та біомаси, що сприяє розвитку біореакторних технологій та створенню екологічно чистих процесів переробки. Вдосконалення технології одержання активної лужної протеази є актуальним завданням, що має прикладний характер.

Тому метою кваліфікаційної роботи є проектування ділянки виробництва (апаратурна і технологічна схеми) субстанції лужної протеази у вигляді нев'язкої, прозорої рідини для подальшого її очищення, висушування та фасування.

Для досягнення поставленої мети необхідно вирішити наступні завдання :

Об'єкт дослідження: технологія гідролітичного ферментного препарату з протеолітичною активністю

Предмет дослідження: протеолітичні ферменти, поживні середовища, індуктори, ферментація, виділення

Робота обсягом 99 сторінок складається із вступу, 6 розділів, загальних висновків, списку використаних літературних джерел, що включає 96 найменування (8 сторінки), 12 рисунків (8 сторінки), 14 таблиць (12 сторінок) та додатків (5 сторінки).

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ:

- 1) Вдовенко, Н. М. та Паламар, І. О. Формування вітчизняного ринку комбікормів в умовах глобалізації та євроінтеграції. Глобальне управління та економіка 2015.162–168 с.
- 2) Кормовиробництво: Навчальне видання. — 2-е вид., доп. і перероб. — К.: Вища освіта, 2005. — 448 с.
- 3) El-Khonezy, M. I., Elgammal, E. W., Ahmed, E. F., and Abd-Elaziz, A. M. Detergent stable thiol-dependant alkaline protease produced from the endophytic fungus aspergillus ochraceus BT21: purification and kinetics. 2021.—PP: 3-14
- 4) Ellaiah, P., Srinivasulu, B., and Adinarayana, K. A review on microbial alkaline proteases. J. Sci. Ind. Res. 2002. P: 690–704.
- 5) Новіков В., Сидоров Ю., Швед О. Тенденції розвитку комерційної біотехнології // Вісн. НАН України.— 2008. —№ 2. —С. 25–39.
- 6) Ali, T. H., Ali, N., and Mohamed, L. A. Production, purification and some properties of extracellular keratinase from feathers—degradation by aspergillus oryzae NRRL–447. J. Appl. Sci. Environ. Sanit. 2011. P: 123–136.
- 7) Гуменюк О.Л. Харчові технології / Уклад.: – Чернігів: ЧНТУ, 2018. – 155с
Barrett A.J. Proteases // Curr. Protoc. Protein. Sci. – 2001. – Chapter 21. P: 21
- 8) Fruton J.S. A history of pepsin and related enzymes // Q. Rev. Biol. – 2002. – 77, N 2. – P. 127–147.
- 9) Van der Hoorn R.A. Plant proteases: from phenotypes to molecular mechanisms // Annu. Rev. Plant. Biol. – 2008. P: 191–223.
- 10) Sandhya C. Nampootheri K.M., Pandey A. Microbial proteases // Methods in Biotechnol. – 2005. – 17. – P: 165–179.
- 11) Капрельянц Л.В. Біологічна хімія з основами фізіології харчування: курс лекцій / 4-те вид., перероб. і доповн. Харків: Факт, 2023.—228 с.
- 12) О.В. Мацелюх, А.С. Левішко, Л.Д. Варбанець. Протеолітичні ферменти мікроорганізмів. Мікробіол. журн.Т. 72, № 4.2008. С. 29–49.
- 13) Hartley B.S. Proteolytic enzymes // Annu. Rev. Biochem. – 1960. – 29. – P. 45–72

- 14) North M.J. Comparative biochemistry of the proteinases of eukaryotic microorganisms // *Microbiol. Rev.* – 46, N 3. –1982. P: 308–340.
- 15) Rao M.B., Tanksale A.M., Ghatge S.M., Deshpande V.V. Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*– 62, N 3.1998. P: 598–635.
- 16) Бондаренко В.М, Мавзютов А.Р., Агапова О.В. Серинові протеази грамнегативні бактерії: структура, механізм секреції, біологічна активність // *Журн. мікробиол.*– № 6. – .2002. С. 80–85.
- 17) Govind N.S., Mehta B., Sharma M., Modi V.V. Protease and carotenogenesis in *Blakeslea trispora* // *Phytochemistry.*– 20, N 11. –1981. P. 2483–2485.
- 18) M.N., Hsu I.N., Delbaere L.T. Mechanism of acid protease catalysis based on crystal structure of penicillopepsin // *Nature.* – 267. – 1977.P. 808–813.
- 19) Rüchel R., Reichard U. Characterization of an extracellular subtilisin protease of *Rhizopus microsporus* and evidence for its expression during invasive rhinoorbital mycosis // *Med. Mycol.*– 44, N 8. –2006. P: 723–731.
- 20) Barrett A.J. Proteolytic enzymes: aspartic and metalloproteases // *Meth. Enzymol.*– 248. – 1995.P. 183– 197.
- 21) Rawlings N.D., Barrett A.J Families of aspartic peptidases, and those of unknown mechanism // *Methods Enzymol.* – 248. – 1995.P. 105–120.
- 22) Руденська Г.М.. Пупов Д.В. Цистеїнові протеїнази мікроорганізмів і вірусів // *Біохімія.* - 73, № 1.2008. С. 4-13.
- 23) Barrett A.J., Rawlings N.D. Families and clans of cysteine peptidases // *Perspect. Drug. Discov. Design.*– 6, N 6. – 1996. P. 1–11.
- 24) Otto H.-H., Schirmeister T. Cysteine proteases and their inhibitors // *Chem. Rev.* – 97, N 1. – 1997.P. 133–172.
- 25) Lourenco P.M.L., de Castro S., Martins T.M. et al. Growth and proteolytic activity of hairy roots from *Centaurea calcitrapa*: effect of nitrogen and sucrose // *Enzyme Microb. Technol.*– 31, N 3. – 2002.P: 242–249.
- 26) Rawlings N.D., Barrett A.J. Evolutionary families of metallopeptidases // *Methods Enzymol.*– 248. – 1995. P: 183–228.

- 27) Mansfeld J., Ulbrich-Hofmann R. The stability of engineered thermostable neutral proteases from *Bacillus stearothermophilus* in organic solvents and detergents // *Biotechnol. Bioeng.*– 97, N 4. –2007. P: 672– 679.
- 28) Дьоміна Н.С., Лисенко С.В. Колагенолітичні ферменти мікроорганізмів // *Мікробіологія.* - 65, № 3. – 1996. С. 293-304.
- 29) Gupta S.P., Kumaran S. A quantitative structure-activity relationship study on *Clostridium histolyticum* collagenase inhibitors: roles of electrotopological state indices // *Bioorg. Med. Chem.*– 11, N 14. – 2003. P. 3065–3071.
- 30) Tamai E., Miyata S., Tanaka H et al. High-level expression of his-tagged clostridial collagenase in *Clostridium perfringens* // *Appl. Microbiol. Biotechnol.*– 80, N 4. – 2008. P. 627–635.
- 31) Tong N.T., Tsugita A., Keil-Dlouha V. Purification and characterization of two high-molecular-mass forms of *Achromobacter* collagenase // *Biochim. Biophys. Acta.*– 874. –1986. P. 296–304.
- 32) Gupta S.P., Kumaran S. A quantitative structure-activity relationship study on *Clostridium histolyticum* collagenase inhibitors: roles of electrotopological state indices // *Bioorg. Med. Chem.* – 11, N 14. – 2003. P. 3065–3071.
- 33) Nenan S, Planquois JM, Berna P et al. Analysis of the inflammatory response induced by rhMMP-12 catalytic domain in-stilled in mouse airways. *International Immunopharmacology.*2005. P: 36
- 34) Mechanisms of Catalysis by Kevin Ahern, Indira Rajagopal, & Taralyn Tan is licensed CC BY-NC-SA 4.0.– 1999.–P: 21–48.
- 35) Bellon G., J. C. Monboisse, A. Randoux & J. P. Borel: Effects of preformed proline and proline amino acid precursors (including glutamine) on collagen synthesis in human fibroblast cultures.–1987.–P: 39-47.
- 36) Bellon G., B. Chaqour, Y. Wegrowski, J. C. Monboisse & J. P. Borel: Glutamine increases collagen gene transcription in cultured human fibroblasts.–1995.–P: 311-323.

- 37) Hernández-Montañez Z., Araujo-Osorio J., Noriega-Reyes Y. et al. The intracellular proteolytic system of *Yarrowia lipolytica* and characterization of an aminopeptidase // FEMS Microbiol. Lett. – 268, N 2. – 2007. P. 178–186.
- 38) Watanabe J., Tanaka H., Akagawa T. et al. Characterization of *Aspergillus oryzae* aspartyl aminopeptidase expressed in *Escherichia coli* // Biosci. Biotechnol. Biochem.– 71, N 10. – 2007. P. 2557–2560.
- 39) Nägler D.K., Zhang R., Tam W. et al. Human cathepsin X: A cysteine protease with unique carboxypeptidase activity // Biochemistry.– 273, N 27. – 1999. P. 12648–12654.
- 40) Rao, M.B.; Tanksale, A.M.; Ghatge, M.S.; Deshpande, V.V. Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases. Microbiol. Mol. Biol.–1998, 62.– P: 597–635.
- 41) Alexander M. Introduction to Soil Microbiology. New York: John Wiley; 1977. PP: 3–7
- 42) Ying Zhang, Jingmin Hu, Qing Zhang, Dongbo Cai, Shouwen Chen & Yonghong Wang. Enhancement of alkaline protease production in recombinant *Bacillus licheniformis* by response surface methodology. 2023.–PP:1–10
- 43) Bajaj, B.K. and Manhas, K. 2012. Production and characterization of xylanase from *Bacillus licheniformis* P11(C) with potential for fruit juice and bakery industry. Biocatalyst Agricultural Biotechnology, 1(4): 330–337.
- 44) Margesin R, Palma N, Knauseder F, Schinner F. Purification and characterization of an alkaline serine protease produced by a psychrotrophic *Bacillus* sp. J Biotechnol. 1992; 24.–P: 203-06
- 45) Potumarthi R, Subhakar C, Jetty A. Alkaline protease production by submerged fermentation in stirred tank reactor using *Bacillus licheniformis* NCIM-2042: Effect of aeration and agitation regimes. Biochem Eng J. 2007; 34.– P: 185-92.
- 46) Ozturk B. Immobilization of lipase from *Candida rugosa* on hydrophobic and hydrophilic supports; M.Sc. Thesis, İzmir Institute of Technology, Biotechnology Department, Izmir. 2001. 46 pp.

- 47) Rahman RNZA, Razak CN, Ampon K, Basri M, Yunus WMZW, Salleh AB. Purification and characterization of a heat-stable alkaline protease from *Bacillus stearothermophilus* F1. *Appl Microbiol Biotechnol.* 1994. P:822-27.
- 48) Sinha N, Satyanarayana T. Alkaline protease production by thermophilic *Bacillus licheniformis*. *Indian J Microbiol.* 1991. P.25-30.
- 49) Gouda MK. Optimization and purification of alkaline protease produced by marine *Bacillus* sp. MIG newly isolated from Eastern harbour of Alexandria. *Pol J Microbio.* 2006; 55 (2): 119-26.
- 50) Anson ML (1938) Estimation of pepsin, papain and cathepsin with hemoglobin. *J Gen Phys* 22: 79—89.
- 51) Лобова О.В., Левішко А.С., Гуменюк І.І. Біотехнології: Навч. посібник. – К.: Видавництво НУБіП України 2021. С–123.
- 52) Медична газета «Здоров'я України 21 сторіччя» 2021 р. № 13-14; С–506-507.
- 53) Kashif Younas Butt, Awais Altaf, Muhammad Aslam Malana, Muhammad Ishfaq Ghori and Amer Jamil. Optimal Production of Proteases from *Bacillus subtilis* Using Submerged Fermentation. *Pak. j. life soc. Sci.* –16 (1) –2018.– P: 15
- 54) Технологія мікробного синтезу лікарських засобів: Метод. Рекомендації до викон. курс. роботи для студ. Напрямку 6.051401 «Біотехнологія» ден. форм. навч. / Уклад.: Т. П. Пирог, Ю.М Пенчук. – К.: НУХТ, 2011. – ст 17–19.
- 55) Akhmetova, E. (2016). Genetically modified food and humanity's Well-Being: an Islamic perspective. *Islamic Perspectives on Science and Technology*, 275-287.
- 56) Любова О.В., Пилипчук О.О. Конспект лекцій «Сільськогосподарська біотехнологія»– Київ, 2014. – 83 с.
- 57) Ying Zhang, Jingmin Hu, Qing Zhang, Dongbo Cai, Shouwen Chen & Yonghong Wang. Enhancement of alkaline protease production in recombinant *Bacillus licheniformis* by response surface methodology. 2023.–PP:1–10

- 58) Gupta A, Khare SK. Enhanced production and characterization of a solvent stable protease from solvent tolerant *Pseudomonas aeruginosa* PseA. *Enzyme Microb Technol.* 2007;42(1).–P:11–16.
- 59) Neklyudov A, Ivankin A, Berdutina A. Properties and uses of protein hydrolysates (Review). *Appl Biochem Microbiol.* 2000.–P:–14.
- 60) Rebeca BD, Pen˜a-Vera MT, Di´az-Castan˜eda M. Production of fish proteinhydrolysates with bacterial proteases; Yield and nutritional value. *J Food Sci*1991;56.–P:309–314.
- 61) [Електронний ресурс]. – Режим доступу до сайту: <https://www.bestzyme.com/the-role-of-alkaline-protease-in-feed-production.html#:~:text=Widespread%20use%20of%20alkaline%20protease,a%20Ocertain%20degree%20of%20waste>.
- 62) Rao, M.B.; Tanksale, A.M.; Ghatge, M.S.; Deshpande, V.V. Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases. *Microbiol. Mol. Bio.* 1998, 62, P:597–635.
- 63) Н.В. Дехтяренко. «Виробництво ферментних препаратів в Україні». Наукові вісті НТУУ "КПІ". УДК 663.15–2013.– С. 48–56.
- 64) Експрес-аналіз зовнішньоекономічної діяльності на ринку ферменти [ензимами]; // Агенство Промислових Новин. - 2001-2013. [Електронний ресурс]. – Режим доступу до сайту: - [http:// www. apn-ua.com/exim/524](http://www.apn-ua.com/exim/524).
- 65) Грачова І. М., Кривова А.Ю. Технологія ферментних препаратів - 3-тє вид., Перероб. і доп.-М.: Вид-во "Елевар", 2000. -512 С [Текст].
- 66) Новіков В., Сидоров Ю., Швед О. Тенденції розвитку комерційної біотехнології // Вісн. НАН України.– 2008. –№ 2. –С. 25–39 [Текст].
- 67) Виробництво протеаз. Виробництво лужної протеази.-2019 [Електронний ресурс]. – Режим доступу до сайту: <http://ua.fengchengroup.net/enzymes-and-bio-products/enzymes/alkaline-protease-or-alkali-protease-powder.html><http://stark.com.ua/index.php>.
- 68) Протеолітичні препарати.-2012. [Електронний ресурс]. – Режим доступу до сайту: <http://www.lekhim.ua/ukr/about/tehnolog/index.html>

- 69) Історія Уманського вітамінного заводу. [Електронний ресурс]. Режим доступу до сайту: https://uk.wikipedia.org/wiki/Уманський_вітамінний_завод
- 70) Історія інституту біології України.[Електронний ресурс]. – Режим доступу до сайту:
https://www.cellbiol.lviv.ua/index.php?action_skin_change=yes&skin_name=cell-ukr&do=cat&category=ukr-home
- 71) Vijayaraghavan P, Vijayan A, Arun A, et al. Cow dung: a potential biomass substrate for the production of detergent–stable dehairing protease by alkaliphilic *Bacillus subtilis* strain VV. Springer Plus. 2012. 76 pp.
- 72) Єгоров Б.В., Шаповаленко О.І., Макаринська А.В. Технологія виробництва преміксів. Підручник. - К.: Центр учбової літератури, 2007.- 288с.
- 73) Витрати підприємств на виробництво продукції сільського господарства. Державна служба статистики України, 2020. [Електронний ресурс]. – Режим доступу до сайту: <http://www.ukrstat.gov.ua/> [Дата звернення 20 січня 2021].
- 74) Василевская И.А. Актиномицеты – продуценты биологически активных веществ: Текст лекции. – Киев: Вища школа. – 1979. – 35 с.
- 75) Крестьянова И.Н., Васильева Л.И., Бартошевич Ю.Э., Ахпаров В.Л., Нахапетян Л.А. Изоэлектрическое фокусирование препарата протеолитических ферментов из *Streptomyces* 771 // Приклад. биохимия и микробиология. – 1983. – 19, № 2. – С. 217–225.
- 76) Іванко О.В. Колагеназа і кератиназа стрептоміцетів : Автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук. : спец. «03.00.07 Мікробіологія». – Київ, 2003. – 20 с.
- 77) Кулаев И.С. Бактериологические ферменты микробного происхождения в биологии и медицине // Соросовский образовательный журнал. – 1997. – № 3. – С. 23–31.
- 78) Мацелюх О.В., Варбанець Л.Д. Кератинолітичні ферменти мікроорганізмів // Мікробіол. журн. – 2008. – 70, № 5. – С. 54–64.

- 79) Capiralla H., Hiroi T., Hirokawa T., Maeda S. Purification and characterization of a hydrophobic amino acid-specific endopeptidase from *Halobacterium halobium* S9 with potential application in debittering of protein hydrolysates // *Process Biochemistry*. – 2002. – 38, N 4. – P: 571–579.
- 80) Sanchez-Porro C., Mellado E., Bertoldo C. Screening and characterization of the protease CP1 produced by the moderately halophilic bacterium *Pseudoalteromonas* sp. strain CP76 // *Extremophiles*. – 2003. P: 221–228.
- 81) DasSarma S., Arora P. Halophiles, encyclopedia of life sciences. – London: Nature Publishing Group, 2002.– P: 458–466.
- 82) Demirjian D.C., Moris-Varas F., Cassidy C.S. Enzymes from extremophiles // *Curr. Opin. Chem. Biol.* . – 5, N 2.– 2001. – 5, N 2. – P: 144–151.
- 83) Пирог Т.П. Загальна мікробіологія: Підручник.–К.: НУХТ, 2004.–ст:102-354.
- 84) Плямовивідникики «Wieberr» [Електронний ресурс]. – Режим доступу до сайту: https://wieberr.com.ua/blog/plyamovividnik_plyamovuvudnik
- 85) Eveleigh DE. The microbial production of industrial chemicals. *Sci Am*. 1981.– PP: 155–178.
- 86) Erickson RJ. Industrial applications of the bacilli: a review and prospectus. In: Schlesinger D, editor. *In Microbiology*. Washington: American Society for Microbiology; 1976.–PP. 406–419.
- 87) Технологія мікробного синтезу лікарських засобів: Метод. Рекомендації до викон. курс. роботи для студ. Напрямку 6.051401 «Біотехнологія» ден. форм. навч. / Уклад.: Т. П. Пирог, Ю.М Пенчук. – К.: НУХТ, 2011. – ст. 17–19.
- 88) Fu Z, Hamid SBA, Razak CNA, Basri M, Bakar Salleh A, Rahman RNZA: Secretory expression in *Escherichia coli* and single-step purification of a heat-stable alkaline protease. *Protein Expr Purif* 2003.–P: 15.
- 89) Навчальний посібник з аптечної технології ліків Харків «Оригінал». Автори: Т. Г. Ярних, Л. І. Вишневська, Т. М. Ковальова, О. С. Данькевич, О. С. Богуцька, Н. Ф. Орловецька, С. С. Зуйкіна 2021.– 230с.

- 90) Optimization of Bacillus Licheniformis IOP Conference Series Materials Science and Engineering 612(2):022112. October 2019.–P: 2-3
- 91) Jiang Junpo, Gao Tongguo, Wang Shiyong. Optimization of Cellulase Production Fermentation. 2019.–P:76-89.
- 92) Feed Research. Conditions of Bacillus amyloliquefaciens Tu-115 by Response Surface Methodology.2015.–P: 67-72.
- 93) Sui Ming, Yang Zhang, Yonglin Guan, Chunming Li, Xuexiang Shu, Jiachao Rong, Rongqing Zhou Ermentation Optimization of Bacillus Licheniformis IOP Conference Series Materials Science and Engineering 612(2):022112.2019 .P: 10-34
- 94) Любова О.В., Пилипчук О.О. Конспект лекцій «Сільськогосподарська біотехнологія» – Київ, 2014. – 83 с.
- 95) Baltz R. Genetic manipulation of secondary metabolite biosynthesis for improved production in Streptomyces and other actinomycetes. Biotechnology. №43.2016.–P:344 – 361.