

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ТЕХНОЛОГІЙ ТА ДИЗАЙНУ

Факультет хімічних та біофармацевтичних технологій
Кафедра біотехнології, шкіри та хутра

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему:

«Технологія біосинтезу рибофлавіну»

Рівень вищої освіти перший (бакалаврський)
Спеціальність 162 Біотехнології та біоінженерія
Освітня програма Біотехнологія

Виконав: студент групи ББТ-22

Абдураїмов Д. А.

Науковий керівник: к.т.н., доц. Майстренко Л. А.

Рецензент: к.т.н., доц. Охмат О. А.

Київ 2026

КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ТЕХНОЛОГІЙ ТА ДИЗАЙНУ

Факультет	<u>хімічних та біофармацевтичних технологій</u>
Кафедра	<u>біотехнології, шкіри та хутра</u>
Рівень вищої освіти	<u>перший (бакалаврський)</u>
Спеціальність	<u>162 Біотехнології та біоінженерія</u>
Освітня програма	<u>Біотехнологія</u>

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри БШХ

_____ Олена МОКРОУСОВА
« ____ » _____ 2026 р.

ЗАВДАННЯ
НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ СТУДЕНТУ
Абдураїмову Даниїлу Арсенійовичу

1. Тема кваліфікаційної роботи: **Технологія біосинтезу рибофлавіну**

Науковий керівник роботи: Майстренко Л. А., к.т.н., доц.
затверджені наказом КНУТД від «17» березня 2026 року № 62-уч

2. Вихідні дані до кваліфікаційної роботи: завдання на кваліфікаційну роботу; наукова література щодо технології біосинтезу рибофлавіну штамом *Ashbya gossypii* ATCC 10895; технологічні схеми промислового отримання рибофлавіну; матеріали переддипломної практики.

3. Зміст кваліфікаційної роботи: техніко-економічне обґрунтування, обґрунтування вибору технологічної схеми виробництва, характеристика біологічного агента, опис технологічної схеми, контроль якості, висновки, список використаних джерел, додатки.

4. Дата видачі завдання: «17» березня 2026 року

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапу кваліфікаційної роботи	Орієнтовний термін виконання	Примітка про виконання
1	Вступ		
2	Розділ 1 Техніко-економічне обґрунтування		
3	Розділ 2 Обґрунтування вибору технологічної схеми виробництва		
4	Розділ 3 Характеристика біологічного агенту		
5	Розділ 4 Опис технологічної схеми		
6	Розділ 5 Контроль якості		
7	Висновки		
8	Оформлення кваліфікаційної роботи (чистовий варіант)		
9	Подача кваліфікаційної роботи науковому керівнику для відгуку (за 14 днів до захисту)		
10	Подача кваліфікаційної роботи для рецензування (за 12 днів до захисту)		
11	Перевірка кваліфікаційної роботи на наявність ознак плагіату (за 10 днів до захисту)		Коефіцієнт подібності ____% Коефіцієнт цитування ____%
12	Подання кваліфікаційної роботи на підпис завідувачу кафедри (за 7 днів до захисту)		

З завданням ознайомлений:

Студент _____ Даниїл АБДУРАЇМОВ

Науковий керівник _____ Леся МАЙСТРЕНКО

АНОТАЦІЯ

Абдураїмов Д. А. Технологія біосинтезу рибофлавіну. – Рукопис.

Кваліфікаційна робота за спеціальністю 162 «Біотехнології та біоінженерія». – Київський національний університет технологій та дизайну, Київ, 2026 рік.

Кваліфікаційну роботу присвячено розробленню технології біосинтезу рибофлавіну (вітаміну B₂) із використанням штаму *Ashbya gossypii* ATCC 10895 у відповідності до техніко-економічного обґрунтування. У роботі обґрунтовано доцільність вибору біологічного агенту, складу поживного середовища та умов глибинного аеробного періодичного культивування. Прийнята річна потреба у цільовому продукті становить 650,0 г/рік. За використання ферментера геометричним об'ємом 50 л із робочим об'ємом 30 л і концентрації рибофлавіну в культуральній рідині 8,12 г/л річний випуск забезпечується трьома виробничими циклами і становить 730,8 г/рік. Розроблено технологічну схему виробництва із зазначенням основного технологічного процесу, допоміжних робіт, умов зберігання культуральної рідини, маркування, тимчасове зберігання та передача культуральної рідини та знешкодження відходів. Обрано методики контролю якості на стадіях біосинтезу та для готового цільового продукту.

Ключові слова: рибофлавін, вітамін B₂, Ashbya gossypii ATCC 10895, глибинне культивування, ферментер, поживне середовище, технологічна схема, контроль якості.

ABSTRACT

Abduraimov D. A. Technology of riboflavin biosynthesis. – Manuscript.

Qualification work in specialty 162 «Biotechnology and bioengineering». – Kyiv National University of Technologies and Design, Kyiv, 2026.

The qualification work is devoted to the development of biotechnology for riboflavin (vitamin B₂) production using the *Ashbya gossypii* ATCC 10895 strain in accordance with the technical and economical justification. The choice of the biological agent, composition of the nutrient medium and conditions of submerged aerobic batch cultivation are substantiated. The accepted annual demand for the target product is 650.0 g/year. Using a fermenter with a geometric volume of 50 L and a working volume of 30 L, and a riboflavin concentration in the culture liquid of 8.12 g/L, the annual output is provided by three production cycles and amounts to 730.8 g/year. A technological scheme has been developed, covering the main technological process, auxiliary operations, storage of the culture liquid, labelling, temporary storage and transfer of the culture liquid to further riboflavin isolation and purification stages, as well as waste treatment. Quality control methods have been selected both at the biosynthesis stages and for the finished target product.

Keywords: riboflavin, vitamin B₂, *Ashbya gossypii* ATCC 10895, submerged cultivation, fermenter, nutrient medium, technological scheme, quality control.

ПЕРЕЛІК СКОРОЧЕНЬ, УМОВНИХ ПОЗНАК І ТЕРМІНІВ

ATCC	American Type Culture Collection
CIP	Cleaning In Place (миття без розбирання обладнання)
CXL	corneal collagen cross-linking (корнеальний колагеновий крос-лінкінг)
DO	dissolved oxygen (розчинений кисень)
FAO	Food and Agriculture Organization
NCBI	National Center for Biotechnology Information
Ph.Eur.	Європейська Фармакопея
БАР	біологічно активна речовина
ВООЗ	Всесвітня організація охорони здоров'я
ДР	стадія допоміжних робіт
ДФУ	Державна Фармакопея України
ЗВ	стадія знешкодження відходів
КДА	картопляно-декстрозний агар
Км	мікробіологічний контроль
КР	кваліфікаційна робота
Кт	технологічний контроль
Кх	хімічний / фізико-хімічний контроль
МО	міжнародна одиниця
ПМВ	стадія маркування, тимчасового зберігання та передачі культуральної рідини
ТЕО	техніко-економічне обґрунтування
ТП	стадія основного технологічного процесу
ФАД	флавінаденіндинуклеотид
ФМН	флавінмононуклеотид

ЗМІСТ

ВСТУП.....	8
РОЗДІЛ 1. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ.....	11
1.1 Характеристика цільового продукту	11
1.2 Потреба у цільовому продукті	13
1.3 Розрахунок потужності виробництва	16
1.4 Розрахунок кількості виробничих циклів отримання культуральної рідини та розрахунок об'єму ферментера.....	17
РОЗДІЛ 2. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ВИРОБНИЦТВА	19
2.1 Обґрунтування вибору біологічного агента	19
2.2 Обґрунтування способу проведення біосинтезу	24
2.3 Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу, підготовка поживного середовища та параметри стерилізації	31
РОЗДІЛ 3. ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА.....	37
3.1 Таксономічний статус	37
3.2 Морфолого-культуральні властивості.....	38
3.3 Фізіолого-біохімічні ознаки	40
РОЗДІЛ 4. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ.....	42
4.1 Поетапна блок-схема технології	42
4.2 Опис технологічної схеми	43
РОЗДІЛ 5. КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ.....	52
5.1 Методики контролю на стадії біосинтезу	52
5.2 Методи контролю цільового продукту.....	55
ВИСНОВКИ	58
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	60
ДОДАТКИ.....	65

ВСТУП

Актуальність теми. Рибофлавін (вітамін В₂) – водорозчинний вітамін, що є попередником коферментів ФАД і ФМН і забезпечує перебіг численних окисно-відновних реакцій у клітині. Поряд із класичним харчовим і кормовим застосуванням рибофлавіну особливого значення набуває його використання у фармацевтичній і медичній галузях, зокрема як фотосенсибілізатора у процедурі корнеального колагенового крос-лінкінгу (CXL) при лікуванні кератоконусу. На сьогоднішній день промислове виробництво рибофлавіну здійснюється переважно мікробіологічним шляхом, що дозволяє масштабувати процес, використовувати відносно дешеві субстрати та шляхом зміни технологічних параметрів керувати виходом продукту. Розроблення вітчизняної технології біосинтезу рибофлавіну з використанням штаму-надпродуцента є актуальним завданням, оскільки дозволяє забезпечити внутрішній попит фармацевтичного й медичного ринку, знизити імпортозалежність і створити основу для подальшого розвитку біотехнологічної галузі.

Мета роботи: розробити технологію біосинтезу рибофлавіну (вітаміну В₂) з використанням штаму *Ashbya gossypii* ATCC 10895 із обґрунтуванням потужності виробництва, складу поживного середовища, способу культивування та технологічної схеми отримання культуральної рідини.

Завдання дослідження:

- обґрунтування потреби у цільовому продукті та розрахувати потужність виробництва;
- обґрунтування вибору біологічного агенту та складу поживного середовища шляхом порівняння альтернативних продуцентів за технологічними та умовно-економічними показниками;
- обґрунтування способу проведення біосинтезу, вибору ферментера, параметрів культивування та підготовки аераційного повітря;

					КР.ГЧ.162.01			
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата	ВСТУП	Літ.	Аркуш	Аркушів
Розробив		Абдураїмов Д.				Д	8	3
Перевірив		Майстренко Л.				КНУТД, ББТ-22		
Н.Контр.								
Затвердив								

- розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу та підбір схеми приготування й стерилізації поживного середовища;
- розроблення поетапної блок-схеми технології та опису технологічну схеми виробництва;
- обрати методики контролю якості на стадіях біосинтезу, а також методи визначення та ідентифікації рибофлавіну в культуральній рідині.

Об’єкт дослідження – технологія біосинтезу рибофлавіну з використанням мікроорганізму-продуцента.

Предмет дослідження – параметри глибинного аеробного періодичного культивування штаму *Ashbya gossypii* ATCC 10895 у ферментері геометричним об’ємом 50 л та технологічна схема одержання культуральної рідини, що містить рибофлавін.

Методи дослідження. У роботі застосовано методи літературно-аналітичного огляду, порівняльного аналізу альтернативних біологічних агентів та поживних середовищ, техніко-економічного обґрунтування, інженерних розрахунків матеріальних потоків та об’ємів культивування, а також обґрунтування технологічних рішень на основі морфолого-культуральних і фізіолого-біохімічних характеристик продуцента.

Наукова новизна одержаних результатів полягає у: комплексному обґрунтуванні та масштабуванні технологічної схеми біосинтезу рибофлавіну штамом-надпродуцентом *Ashbya gossypii* ATCC 10895 відповідно до розрахункових потреб фармацевтичного ринку України на 2026 рік; подальшому розвитку обґрунтування параметрів культивування продуцента з урахуванням специфічних вимог до чистоти та концентрації цільового продукту для його клінічного застосування (зокрема, у процедурі корнеального колагенового крос-лінкінгу та як компонента засобів метаболічної підтримки); удосконаленні апаратного оформлення процесу шляхом обґрунтування та впровадження ферментера із системою стерилізації на місці (SIP), що забезпечує підвищений рівень асептики та стабільність біосинтезу.

					КР.ГЧ.162.01	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		9

Практичне значення одержаних результатів. Запропонована технологічна схема може бути використана як проєктна основа для організації біотехнологічного виробництва рибофлавіну, а також у навчальному процесі при вивченні дисциплін біотехнологічного циклу.

Апробація результатів дослідження. Основні положення кваліфікаційної роботи були представлені на XII Міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні досягнення фармацевтичної технології», що відбулася 9 квітня 2026 року у м. Харків.

Публікації. За матеріалами кваліфікаційної роботи опубліковано тези доповіді: Абдураїмов Д. А. Перспективи біосинтезу рибофлавіну в Україні. Сучасні досягнення фармацевтичної технології: збірник наукових матеріалів XII Міжнародної науково-практичної конференції, м. Харків, 9 квітня 2026 р. Харків: НФаУ, 2026. С. 28–29.

Структура і обсяг роботи. Кваліфікаційна робота складається зі вступу, п'яти розділів, висновків, списку використаних джерел та додатків. Загальний обсяг роботи без додатків становить 64 сторінок. Список використаних джерел містить 26 найменувань.

					КР.ГЧ.162.01	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		10

РОЗДІЛ 1

ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ

1.1 Характеристика цільового продукту

1.1.1 Загальна характеристика рибофлавіну

Цільовим продуктом проєктованого біотехнологічного виробництва є рибофлавін (вітамін В₂) – водорозчинний вітамін, попередник коферментів флавінаденіндинуклеотиду (ФАД) і флавінмононуклеотиду (ФМН), які беруть участь в окисно-відновних реакціях клітини. Молекулярна формула рибофлавіну – C₁₇H₂₀N₄O₆, структурна формула наведена на рис. 1.1.

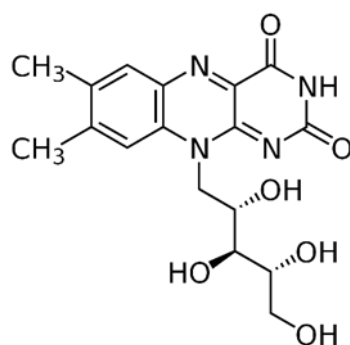


Рис.1.1. Структурна формула рибофлавіну

Рибофлавін синтезується штамом *Ashbya gossypii* ATCC 10895 у ході глибинного культивування на середовищі з рослинними оліями та органічними джерелами азоту. В організмі людини й тварин рибофлавін майже не синтезується і надходить переважно з їжею або кормовими добавками. Мікробна ферментація є основним методом промислового отримання рибофлавіну; на сьогодні з цією метою використовуються мікроорганізми роду *Bacillus* та *Ashbya* [1, 2].

					КР.ГЧ.162.01			
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата				
Розробив		Абдураїмов Д.			РОЗДІЛ 1 ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ	Літ.	Аркуш	Аркушів
Перевірив		Майстренко Л.				Д	11	8
						КНУТД, ББТ-22		
Н.Контр.								
Затвердив								

1.1.2 Фізико-хімічні властивості рибофлавіну

Рибофлавін – жовтувато-оранжева кристалічна речовина. Молекулярна маса становить 376,36 г/моль, температура плавлення – близько 280 °С (з розкладанням). Розчинність у воді при 25 °С – 0,11 г/100 мл. У розчині рибофлавін проявляє характерну зелено-жовту флуоресценцію. Чутливий до світла та лужного середовища. Є слаболужним барвником з ізоелектричною точкою 6,0. За ступенем гідрофільності найбільш помірно розчинний серед вітамінів групи В.

1.1.3 Біологічна роль і практичне застосування рибофлавіну

Добова норма рибофлавіну для людини становить 1,3–1,6 мг. Вміст рибофлавіну у молоці складає 0,18 мг/100 г, у яйцях – 0,30 мг/100 г, у яловичій печінці – 2,9 мг/100 г, у м'ясі – 0,15–0,20 мг/100 г, у дріжджах – до 3–4 мг/100 г [3]. Існують дані про специфічний транспорт рибофлавіну через гематоенцефалічний бар'єр.

Серед клінічних застосувань актуальне на сьогоднішній день значення має використання рибофлавіну як фотосенсибілізатора в процедурі корнеального колагенового крос-лінкінгу (CXL) для лікування кератоконусу – прогресуючої ектазії рогівки. Під дією ультрафіолетового випромінювання рибофлавін ініціює реакції фотополімеризації, що зміцнює стромальний колаген і зупиняє прогресування захворювання. Для процедури CXL застосовують офтальмологічний розчин рибофлавіну у концентрації 0,1 % (1 мг/мл), об'ємом 1,5 мл на одне око за стандартним протоколом VibeX Rapid. Якість та безпека продукту регламентуються Державною Фармакопеею України та Європейською Фармакопеею [4, 5, 6].

					КР.ГЧ.162.01	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		12

1.1.4 Способи промислового отримання рибофлавіну

Рибофлавін може бути отриманий кількома промисловими способами: хімічним синтезом, напівсинтетичним способом та мікробіологічним біосинтезом. Історично одним із перших промислових підходів був хімічний синтез, що ґрунтувався на багатостадійних реакціях органічного синтезу з використанням вихідних ароматичних і гетероциклічних сполук. Такий спосіб дозволяв отримувати рибофлавін у промислових масштабах, однак потребував значної кількості хімічних реагентів, складного очищення проміжних продуктів та супроводжувався утворенням побічних відходів.

Напівсинтетичний спосіб поєднує етапи хімічного синтезу з використанням біологічно отриманих або природних попередників. Він може зменшувати кількість окремих хімічних стадій, однак усе ще потребує застосування реагентів і складного контролю якості проміжних продуктів. Тому такий підхід поступово поступається місцем більш екологічним і керованим біотехнологічним процесам.

Найбільш перспективним і поширеним у сучасній промисловості є мікробіологічний спосіб отримання рибофлавіну. Як продуценти можуть використовуватися мікроорганізми *Ashbya gossypii*, *Candida famata* та *Bacillus subtilis*. Перевагами мікробного біосинтезу є можливість використання відновлюваної сировини, нижчі енергетичні витрати порівняно з багатостадійним хімічним синтезом, менша кількість токсичних реагентів і можливість підвищення виходу продукту шляхом оптимізації складу поживного середовища, умов культивування та селекції штамів-продуцентів.

У межах даної кваліфікаційної роботи обрано саме мікробіологічний спосіб отримання рибофлавіну, оскільки він найкраще відповідає сучасним тенденціям розвитку промислової біотехнології та дозволяє організувати процес на основі керованого глибинного культивування штаму-надпродуцента *Ashbya gossypii* ATCC 10895 [1, 2].

					КР.ГЧ.162.01	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		13

1.2 Потреба у цільовому продукті

1.2.1 Використання рибофлавіну в медицині

Сучасний розвиток медичної та біотехнологічної галузей вимагає впровадження ефективних цільових продуктів, які можуть використовуватись як у лікувальних, так і в профілактичних цілях. Особливу увагу сьогодні приділяють біологічно активним сполукам, здатним впливати на метаболічні процеси, підтримувати функціональний стан тканин та підвищувати ефективність сучасних медичних технологій. Саме тому розробка біотехнологічного виробництва рибофлавіну є актуальною та має практичне значення для медичної сфери.

Рибофлавін бере участь у клітинному метаболізмі, окисно-відновних реакціях, енергетичному обміні та забезпеченні нормального функціонування тканин організму. Одним із найбільш важливих напрямків його використання є лікування кератоконусу методом корнеального колагенового крос-лінкінгу (CXL), де рибофлавін застосовується як фотосенсибілізатор. Для проведення однієї процедури CXL використовується офтальмологічний розчин рибофлавіну концентрацією 0,1 % в об'ємі 1,5 мл на одне око, що відповідає 1,5 мг діючої речовини. Крім офтальмології, рибофлавін розглядається як перспективний компонент у складі засобів метаболічної підтримки при дисплазії кісток і суглобів, зокрема при дисплазії кульшових суглобів у новонароджених [3, 4].

1.2.2 Розрахунок потреби для процедури CXL

Річна потреба у рибофлавіні для процедури CXL на ринку України, за оцінкою на основі поширеності кератоконусу та частоти проведення процедури, становить 64,7 г/рік.

Для уточнення річної потреби у рибофлавіні для проведення CXL приймаємо розрахункову оцінку на основі чисельності населення України,

					КР.ГЧ.162.01	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		14

поширеності кератоконусу та кількості діючої речовини, необхідної для однієї процедури.

Для розрахунку прийнято чисельність населення України у 2024 році на рівні 37,86 млн осіб. Оскільки офіційна реєстрова статистика щодо поширеності кератоконусу в Україні є обмеженою, для розрахунку приймаємо умовну частоту кератоконусу 95 випадків на 100 000 населення. Така величина є проміжною між класичною оцінкою поширеності кератоконусу 54 випадки на 100 000 населення та сучасними метааналітичними оцінками, що вказують на вищу поширеність захворювання [7].

Розрахункова кількість пацієнтів із кератоконусом становитиме:

$$N_{\text{пац}} = N_{\text{нас}} \times P_{\text{к}} / 100\,000 = 37\,860\,221 \times 95 / 100\,000 = 35\,967 \text{ осіб}$$

де $N_{\text{пац}}$ – розрахункова кількість пацієнтів із кератоконусом, осіб;

$N_{\text{нас}}$ – чисельність населення України, осіб;

$P_{\text{к}}$ – прийнята поширеність кератоконусу, випадків на 100 000 населення.

Оскільки кератоконус часто має двобічний характер, але не всі пацієнти потребують одночасного втручання на обох очах, для розрахунку прийнято коефіцієнт врахування двосторонніх процедур $K_{\text{двоб}} = 1,20$. Тоді розрахункова кількість процедур CXL становитиме:

$$N_{\text{проц}} = N_{\text{пац}} \times K_{\text{двоб}} = 35\,967 \times 1,20 = 43\,160 \text{ процедур/рік.}$$

					КР.ГЧ.162.01	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		15

Для однієї процедури CXL використовується 1,5 мл 0,1 % розчину рибофлавіну, що відповідає 1,5 мг діючої речовини на одне око. Річна потреба у рибофлавіні для проведення CXL становитиме:

$$M_{\text{CXL}} = N_{\text{проц}} \times m_{\text{риб}} = 43\,160 \times 1,5 = 64\,740 \text{ мг/рік} = 64,74 \text{ г/рік},$$

де M_{CXL} – річна потреба у рибофлавіні для процедури CXL, мг/рік;

$N_{\text{проц}}$ – розрахункова кількість процедур CXL на рік;

$m_{\text{риб}}$ – кількість рибофлавіну на одну процедуру, мг.

Отже, розрахункова річна потреба у рибофлавіні для процедури CXL становить приблизно 64,7 г/рік.

1.2.3 Розрахунок додаткової потреби для профілактичного застосування

Додаткову потребу для профілактичного застосування рибофлавіну розраховано для захворювання дисплазія кульшових суглобів у новонароджених. Для розрахункової оцінки потреби прийнято, що у 2024 році в Україні народилося 176 679 дітей. За мінімальної поширеності дисплазії кульшових суглобів на рівні 5 % кількість потенційних пацієнтів становитиме 8 834 дитини. За умови профілактичного застосування рибофлавіну протягом 6 місяців у дозі 0,3 мг/добу потреба на одного пацієнта становитиме 54 мг, а загальна річна потреба для цієї групи – близько 477 г/рік. Такий підхід дозволяє розширити уявлення про потенційний попит на рибофлавін не лише як на фармацевтичний компонент для офтальмологічної практики, а й як на продукт ширшого медико-біологічного застосування [3].

1.2.4 Прийнята річна потреба з технологічним запасом

Сумарна річна потреба у цільовому продукті:

$$M_{\text{сум}} = 64,7 + 477,0 = 541,7 \text{ г/рік}$$

З урахуванням технологічного запасу 20 % до подальших розрахунків приймаємо величину:

$$M_{\text{річн}} = 541,7 \times 1,20 \approx 650,0 \text{ г/рік (0,65 кг/рік)} \quad (1.1)$$

1.3 Розрахунок потужності виробництва

1.3.1 Вихідні дані для розрахунку

Вихідні дані даної кваліфікаційної роботи: цільовий продукт – рибофлавін (вітамін B₂); біологічний агент – *Ashbya gossypii* ATCC 10895; концентрація рибофлавіну в культуральній рідині C = 8,12 г/л; прийнята річна потреба M_{річн} = 650,0 г/рік; коефіцієнт заповнення ферментера φ = 0,60 (з урахуванням піноутворення та в'язкості культурального середовища); геометричний об'єм ферментера V_{геом} = 50 л.

1.3.2 Розрахунок необхідного об'єму культуральної рідини

Мінімальний об'єм культуральної рідини, необхідний для отримання річної кількості продукту:

$$V_{\text{кр}} = M_{\text{річн}} / C = 650,0 / 8,12 \approx 80,05 \text{ л} \quad (1.2)$$

Отже, для задоволення річної потреби необхідно одержати приблизно 80,0 л культуральної рідини.

1.3.3 Розрахунок кількості продукту за один цикл

Робочий об'єм ферментера при заповненні на 60 %:

$$V_{роб} = V_{геом} \times \varphi = 50,0 \times 0,60 = 30,0 \text{ л} \quad (1.3)$$

Кількість рибофлавіну, яку можна отримати за один виробничий цикл:

$$M_{цикл} = V_{роб} \times C = 30,0 \times 8,12 = 243,6 \text{ г/цикл} \quad (1.4)$$

1.4 Розрахунок кількості виробничих циклів отримання культуральної рідини та розрахунок об'єму ферментера

1.4.1 Вибір геометричного та робочого об'єму ферментера

Для реалізації процесу обрано стандартний ферментер геометричним об'ємом 50 л з робочим об'ємом 30 л. Такий вибір узгоджується з прийнятим коефіцієнтом заповнення 0,60, який враховує підвищене піноутворення та зростання в'язкості міцеліальної культуральної рідини, характерні для нитчастого продуцента *Ashbya gossypii* ATCC 10895.

1.4.2 Розрахунок кількості циклів на рік

Кількість виробничих циклів на рік визначаємо за формулою:

$$n = M_{річн} / M_{цикл} = 650,0 / 243,6 = 2,67 \quad (1.5)$$

Оскільки кількість циклів повинна бути цілим числом, приймаємо $n = 3$ цикли/рік.

1.4.3 Фактичний річний випуск продукту

Фактичний річний випуск при 3 циклах становитиме:

$$M_{факт} = n \times M_{цикл} = 3 \times 243,6 = 730,8 \text{ г/рік} \quad (1.6)$$

Отже, фактичний річний випуск становитиме 730,8 г/рік, що покриває розрахункову потребу (650,0 г/рік) та створює невеликий технологічний резерв на покриття можливих втрат у наступних стадіях обробки культуральної рідини.

					КР.ГЧ.162.01	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		18

Висновки до розділу 1

У розділі обґрунтовано прийняту річну потребу у рибофлавіні на рівні 650,0 г/рік з урахуванням клінічного застосування у процедурі CXL та потенційного застосування у складі засобів метаболічної підтримки при дисплазії кульшових суглобів. Розраховано, що для забезпечення цієї потреби необхідно одержати близько 80 л культуральної рідини, що еквівалентно трьом виробничим циклам у ферментері геометричним об'ємом 50 л з робочим об'ємом 30 л. Фактичний річний випуск рибофлавіну становитиме 730,8 г/рік.

					КР.ГЧ.162.01	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		19

РОЗДІЛ 2
ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ
ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ВИРОБНИЦТВА

2.1 Обґрунтування вибору біологічного агента

Рибофлавін (вітамін В₂) належить до ключових водорозчинних вітамінів, що входять до складу коферментів ФАД і ФМН та забезпечують перебіг багатьох окисно-відновних реакцій у клітині. З практичної точки зору рибофлавін широко застосовують у харчовій промисловості (вітамінізація продуктів), у кормовиробництві (премікси/концентрати), а також у фармацевтичній галузі. Враховуючи постійний попит на В₂ та вимоги до стабільності якості, найбільш конкурентним у промисловості є мікробіологічний спосіб отримання рибофлавіну, оскільки він дозволяє масштабувати процес, використовувати відносно дешеві субстрати та керувати виходом продукту технологічними параметрами [1, 2].

Водночас біосинтез рибофлавіну чутливий до вибору продуцента і складу поживного середовища: навіть близькі штами можуть демонструвати суттєво різний рівень накопичення продукту та потребувати різних співвідношень джерел вуглецю, азоту та мікроелементів. Саме тому обґрунтування вибору біологічного агента та середовища доцільно виконувати не «інтуїтивно», а через порівняльний аналіз альтернативних варіантів за прозорою системою критеріїв [1, 2].

2.1.1 Порівняння можливих продуцентів рибофлавіну

У даній роботі розглянуто можливість використання штамів *Ashbya gossypii* ATCC 10895, *Bacillus subtilis* ASU8 та *Bacillus subtilis* LY (BSLY) для одержання рибофлавіну. Штами обрано на основі аналізу сучасних літературних джерел [1, 2, 8, 9, 10].

					КР.ГЧ.162.01			
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата	РОЗДІЛ 2 ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ВИРОБНИЦТВА			
Розробив	Абдураїмов Д.							
Перевірів	Майстренко Л.							
Н.Контр.								
Затвердив					КНУТД, ББТ-22			
					Літ.	Аркуш	Аркушів	
					Д	20	18	

Таблиця 2.1

**Поживні середовища та технологічні показники культивування
з метою одержання рибофлавіну**

Біоагент	Склад поживного середовища, г/л	Риб., г/л	Трив., год	Продукт., г/л·год	Особливості процесу	Джерело
<i>Ashbya gossypii</i> ATCC 10895	соєва олія – 50; Osseocolla – 25; KH ₂ PO ₄ – 2; кукурудзяний екстракт – 20; NaCl – 2	8,12	168	0,048	Глибинне аеробне культивування, 28–30 °С, слабкокислий pH; підвищена аерація, обережне перемішування; піноутворення, зростання в'язкості	[8]
<i>Bacillus subtilis</i> ASU8	глюкоза – 60; (NH ₄) ₂ SO ₄ – 2; K ₂ HPO ₄ – 1,5; KH ₂ PO ₄ – 1,5; MgSO ₄ ·7H ₂ O – 0,2	0,274	48	0,006	Глибинне batch/fed-batch, 30–37 °С, нейтральний pH; інтенсивна аерація, контроль DO та піни	[9]
<i>Bacillus subtilis</i> LY (BSLY)	сахароза – 40; white corn steep powder – 15; corn steep powder – 1,5; (NH ₄) ₂ SO ₄ – 5; yeast extract – 5; MgSO ₄ – 0,5; K ₂ HPO ₄ – 3; KH ₂ PO ₄ – 1	0,679	60	0,011	Глибинне fed-batch, 28–32 °С, pH 5–7; помірно-високі аерація/перемішування; підживлення субстратом підвищує вихід	[10]

Згідно з даними табл. 2.1, найвищі показники синтезу рибофлавіну демонструє штам *Ashbya gossypii* ATCC 10895: концентрація продукту – 8,12 г/л за тривалості культивування 168 год, а об'ємна продуктивність – 0,048 г/л·год. Незважаючи на найбільшу тривалість процесу серед розглянутих варіантів, цей штам забезпечує найбільш інтенсивне накопичення рибофлавіну в культуральній рідині, що є визначальним показником для подальшого виділення та очищення цільового продукту.

Штам *Bacillus subtilis* ASU8 характеризується найменшою тривалістю процесу – 48 год, проте концентрація рибофлавіну при цьому становить лише 0,274 г/л, а продуктивність – 0,006 г/л·год. Хоча цей варіант є привабливим з погляду швидкості культивування, його біосинтетичний потенціал щодо накопичення цільового продукту низький, що обмежує доцільність його використання у даній роботі.

Проміжне положення займає штам *Bacillus subtilis* LY (BSLY): концентрація рибофлавіну – 0,679 г/л за тривалості культивування 60 год, продуктивність – 0,011 г/л·год. Порівняно з *B. subtilis* ASU8 цей варіант забезпечує вищий вихід продукту та дещо кращу продуктивність, однак його показники все одно істотно поступаються штаму *Ashbya gossypii* ATCC 10895.

					КР.ГЧ.162.01	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		22

2.1.2 Порівняння складу та вартості поживних середовищ

З метою вибору найбільш економічно обґрунтованого способу отримання рибофлавіну потрібно враховувати вартість середовища для культивування для різних штамів-продуцентів, оскільки це напряму впливає на собівартість готового продукту.

Таблиця 2.2

Вартість поживних середовищ для культивування

Біоагент	Компонент	Концентрація г/л	Ціна, грн/кг*	Джерело [11]	Вартість на 1 л середовища, грн
<i>Ashbya gossypii</i> ATCC 10895	Соєва олія	50	93	1	4,65
	Osseocolla (колагеновий пептон) / пептон ферментативний	25	1300	2	32,50
	NaCl	2	14	3	0,028
	KH ₂ PO ₄	2	150	4	0,30
	Кукурудзяний екстракт	20	1800	6	36,00
Разом					73,50
<i>Bacillus subtilis</i> ASU8	Глюкоза	60	80	7	4,80
	(NH ₄) ₂ SO ₄	2	64	8	0,128
	K ₂ HPO ₄	1,5	360	9	0,540

	KH ₂ PO ₄	1,5	150	4	0,225
	MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,2	20	5	0,004
Разом					5,70
<i>Bacillus subtilis</i> LY (BSLY)	Сахароза	40	130	10	5,20
	White corn steep powder	15	0,22	11	0,004
	Corn steep powder	1,5	268	12	0,402
	(NH ₄) ₂ SO ₄	5	64	8	0,320
	Yeast extract	5	1800	6	9,00
	MgSO ₄	0,5	50	13	0,025
	K ₂ HPO ₄	3	360	9	1,080
	KH ₂ PO ₄	1	150	4	0,150
Разом					16,20

Примітка: *– Ціни на компоненти поживних середовищ прийнято за відкритими комерційними пропозиціями інтернет-постачальників станом на дату формування розрахунку. Дані використано для умовного порівняння вартості поживних середовищ [11]

2.1.3 Умовна вартість 1 г рибофлавіну

Умовну вартість 1 г рибофлавіну, отриманого при культивуванні *Ashbya gossypii* ATCC 10895, *Bacillus subtilis* ASU8 та *Bacillus subtilis* LY (BSLY) розраховано з урахуванням вартості 1 л поживного середовища для культивування та концентрації рибофлавіну з літературних даних [8, 9, 10, 11].

Таблиця 2.3

Умовна вартість 1 г рибофлавіну при культивуванні

Біологічний агент	Вартість 1 л середовища, грн	Концентрація риб., г/л	Умовна вартість 1 г риб., грн	Тривалість, год	Продукт., г/л·год
<i>Ashbya gossypii</i> ATCC 10895	73,5	8,12	9,05	168	0,05
<i>Bacillus subtilis</i> ASU8	5,7	0,274	20,80	48	0,01

<i>Bacillus subtilis</i> LY (BSLY)	16,2	0,679	23,86	60	0,01
---------------------------------------	------	-------	-------	----	------

2.1.4 Обґрунтування вибору *Ashbya gossypii* ATCC 10895

Незважаючи на найвищу вартість поживного середовища (73,5 грн/л), саме штам *Ashbya gossypii* ATCC 10895 є найбільш обґрунтованим вибором для промислового виробництва рибофлавіну оскільки забезпечує принципово вищий вихід цільового продукту на рівні 8,12 г/л проти 0,274–0,679 г/л у бактеріальних штамів *B. subtilis* (різниця у 12–30 разів), що критично впливає на ефективність виділення та очищення продукту. Об'ємна продуктивність 0,048 г/л·год, що приблизно вчетверо перевищує показники *B. subtilis* LY (BSLY). Також за цим варіантом досягається найнижча умовна вартість 1 г рибофлавіну 9,05 грн/г, що є кращим показником порівняно з *Bacillus subtilis* ASU8 (20,80 грн/г) та *Bacillus subtilis* LY (23,86 грн/г).

Отже, варіант *Ashbya gossypii* ATCC 10895 єдиний з розглянутих забезпечує промислово значущий рівень накопичення рибофлавіну, а висока концентрація продукту в культуральній рідині є визначальним фактором реальної рентабельності біотехнологічного виробництва. Поживне середовище для культивування цього штаму обрано складу, г/л: соєва олія – 50; Osseocolla (пептон ферментативний) – 25; KH_2PO_4 – 2; кукурудзяний екстракт – 20; NaCl – 2.

2.2 Обґрунтування способу проведення біосинтезу

2.2.1 Вибір глибинного періодичного культивування

Виробничий біосинтез рибофлавіну штамом *Ashbya gossypii* ATCC 10895 доцільно здійснювати глибинним періодичним способом у стерильних умовах. Цей вибір обумовлений високими вимогами до стерильності тривалого процесу (168 год), необхідністю чіткого контролю основних технологічних параметрів і використанням стандартного для філаментозних продуцентів режиму ферментації. Безперервний режим є технологічно складнішим у керуванні через

					КР.ГЧ.162.01	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		25

міцеліальну природу культури та зростання в'язкості, а напівбезперервний режим за наявних літературних даних не дає суттєвої переваги в досяжній концентрації рибофлавіну [1, 2].

2.2.2 Обґрунтування аеробного режиму

Ashbya gossypii належить до аеробних мікроорганізмів, тому культивування потребує постійної подачі стерильного аераційного повітря та інтенсивного масопереносу кисню. Інтенсивність аерації безпосередньо впливає на швидкість росту культури та накопичення цільового продукту. Водночас надмірно жорсткі режими перемішування і подачі повітря можуть пошкоджувати міцелій, тому аерація має бути достатньою для забезпечення масообміну, але обережною щодо механічного впливу [1, 2].

2.2.3 Обґрунтування температури, рН, аерації та перемішування

Культивування *Ashbya gossypii* ATCC 10895 доцільно здійснювати за аеробних умов при температурі 28–30 °С і слабнокислому значенні рН, близькому до 5,5–6,5. У процесі культивування необхідно забезпечити подачу стерильного повітря через барботер та ефективний масообмін у всьому об'ємі середовища. Оскільки продуцент утворює міцелій, а культуральна рідина характеризується підвищенням в'язкості та схильністю до піноутворення, перемішування повинно бути достатнім для диспергування кисню, але обережним, без надмірного механічного впливу на міцелій. Для запобігання контамінації проводять стерилізацію обладнання, комунікацій, поживних середовищ і аераційного повітря. Робочий об'єм ферментера при цьому приймається 30 л за геометричного об'єму апарата 50 л [1, 2, 8].

2.2.4 Обґрунтування вибору ферментера

При виборі ферментатора враховано біологічні особливості продуцента, характер цільового процесу та вимоги до керованості основних технологічних параметрів. *A. gossypii* – нитчастий гриб, що тривалий час використовується у

					КР.ГЧ.162.01	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		26

промисловому виробництві рибофлавіну, тому для нього добре відомі як переваги, так і технологічні обмеження культивування. Процес отримання рибофлавіну з використанням *A. gossypii* описують як аеробний, а сам продуцент – як філаментозний мікроорганізм із вираженою міцеліальною морфологією [1, 2].

Окремого врахування потребує морфологія продуцента. Для нитчастих грибів характерне формування розгалуженого міцелію, що безпосередньо впливає на реологічні властивості культуральної рідини: сильно розгалужений міцелій підвищує в'язкість середовища та надає йому неньютонівських властивостей. Водночас надмірна інтенсивність перемішування погіршує стан міцелію – посилення агітації покращує масоперенесення, але занадто жорсткі режими шкодять росту [1, 2].

З огляду на це у межах проєкту прийнято стерильний вертикальний ферментатор мішалкового типу з подачею стерильного повітря через газорозподільний пристрій (барботер). Така конструкція найкраще поєднує інтенсивне перенесення кисню в аеробному процесі, керованість температурою і рН, можливість встановлення датчиків розчиненого кисню та піни, а також адаптацію режиму перемішування до міцеліальної культури [1, 8].

Для остаточного підбору апарата зіставлено три представницькі пілотні системи зі стерилізацією *in situ* (SIP): Sartorius BIOSTAT D-DCU, Eppendorf BioFlo Pro та Infors HT Techfors (табл. 2.4). Усі вони є вертикальними мішалковими апаратами з нержавіючої сталі, забезпечують SIP-стерилізацію, контроль температури, рН, розчиненого кисню й піноутворення, а також налаштовуване перемішування й газопостачання, тобто відповідають базовим технічним вимогам процесу [12, 13, 14].

Відмінності стосуються придатності під конкретний процес. Нержавіюча лінія Sartorius перебуває на етапі згортання, що знижує її доцільність як основи для перспективного проєкту. Eppendorf BioFlo Pro орієнтований передусім на безшовний масштабний перехід і належить до преміального сегмента.

					КР.ГЧ.162.01	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		27

Натомість Infors HT Techfors прямо позиціюється виробником для мікробних і грибних (міцеліальних) ферментацій, повноцінно підтримується, а діапазон його робочих об'ємів охоплює прийняті 50 л геометричного / 30 л робочого об'єму.

					КР.ГЧ.162.01	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		28

Порівняльні характеристики ферментаторів різних фірм-виробників

Критерій	Sartorius BIOSTAT D-DCU	DCUEppendorf BioFlo Pro	Infors HT Techfors / Techfors-S
Тип, матеріал	Вертикальний мішалковий AISI 316L	Вертикальний мішалковий, нержавіюча стал	Вертикальний мішалковий, нержавіюча сталь
Об'єми	Робочі об'єми 10/20/30/50/100/200 л – 30 л є	Пілотні-до-виробничих SIP-системи, конфігурується під ~30–50 л	Techfors-S 15/30/42 л; Techfors 20–750 л – 50/30 у діапазоні Techfors
Стерилізація	Автоматичні SIP і CIP	SIP	SIP (пара/електро); CIP через окремий модуль TechCIP
Контроль Т / рН / DO / піна	Подвійний вимір рН і DO, Т, піна	Т / рН / DO / піна (платформа ISM)	Повний контроль + ПЗ EVE
Перемішування / аерація	MFC-газування, змінні мішалки	MFC, змінні мішалки	MFC, змінні мішалки/геометрія під міцелій
Нитчасті гриби	Мікробні + клітинні культури	Бактерії/дріжджі/гриби	Для мікробних ферментацій і грибів (кейс грибного міцелію)
Поточна доступність	Лінію нержавіючих апаратів згортають; продаж до кінця 2025, підтримка до 2032	Доступний	Повна поточна підтримка
Ціна/якість	Преміум, максимальна автоматизація	Преміум, безшовний scale-up	Сильне ціна/якість, компактний, мобільний

Примітка: Точні ціни виробники публікують лише за запитом-комерційною пропозицією, тож стовпець «ціна/якість» – відносна оцінка, а не конкретні суми

На підставі зіставлення обрано пілотний біореактор Infors HT Techfors [14], сконфігурований на геометричний об'єм 50 л і робочий об'єм 30 л. Апарат є мішалковим ферментатором із нержавіючої сталі зі стерилізацією *in situ*, MFC-керованою подачею стерильного аераційного повітря через барботер, регульованим перемішуванням із геометрією мішалок, придатною для чутливого до зсуву міцелію, інтегрованим контролем температури, рН, розчиненого кисню й піни та модульним СІР-очищенням для повторних виробничих циклів. За сукупністю характеристик апарат повністю відповідає параметрам процесу, прийнятим у підрозділах 1.4 та 2.2.3.



Рис. 2.1. Зовнішній вигляд ферментатора Infors HT Techfors

2.2.5 Обґрунтування підготовки стерильного аераційного повітря

Для стерильного фільтрування широко використовують фільтри з номінальним розміром пор 0,2–0,22 мкм; саме такі фільтри застосовують для

затримання бактеріальних контамінантів у лініях подачі повітря та рідин. Їх стерилізуюча здатність підтверджується не лише зазначеним розміром пор, а й випробуванням на бактеріальне утримання. Одним із стандартних тест-мікроорганізмів для такої перевірки є *Brevundimonas diminuta* — дрібна грамнегативна бактерія, яку використовують як модельний організм для оцінювання здатності мембранного фільтра затримувати бактеріальне навантаження. За підходом ASTM F838 фільтр перевіряють шляхом пропускання суспензії *B. diminuta* через мембрану з подальшим контролем фільтрату на наявність життєздатних клітин. Відсутність росту мікроорганізму після фільтрації свідчить про належну бактеріозатримувальну здатність фільтра [15]. Така перевірка є важливою для обґрунтування вибору фінішної стерилізуючої фільтрації, оскільки в аеробному культивуванні *Ashbya gossypii* повітря подається безпосередньо в культуральне середовище, а його контамінація може призвести до порушення чистоти процесу та втрати виробничого циклу.

Передбачено дві послідовні стадії підготовки аераційного повітря: перша — попереднє очищення з видаленням пилу, краплинної вологи та частини механічних аерозолів; друга — фінальна стерилізуюча фільтрація через вискоефективний фільтр безпосередньо перед подачею у ферментатор. Така схема забезпечує мікробіологічну безпеку процесу, захищає аераційну систему від надлишкового навантаження та сприяє стабільному перебігу аеробного культивування [1, 15].

2.2.6 Обґрунтування вибору мийних і дезінфікуючих засобів

Вибір мийних та дезінфікуючих засобів здійснюється з урахуванням двох груп вимог: ефективного видалення органічних і мінеральних забруднень та зниження мікробного навантаження до безпечного рівня без пошкодження матеріалів апаратури і без утворення залишків, здатних негативно вплинути на наступний процес [16, 17, 18, 19].

					КР.ГЧ.162.01	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		31

Для внутрішніх поверхонь ферментатора, трубопроводів, ємностей та арматури прийнято розділення стадій очищення і дезінфекції. Основою системи СІР є лужне миття на основі гідроксиду натрію (типовий робочий діапазон 0,5–4,0 %); після лужної стадії, за потреби, застосовують кислотне промивання для видалення сольових відкладень. Для даної технології як основну стадію прийнято миття 2,0 % розчином NaOH, а кислотне промивання як допоміжний/періодичний етап [16, 18].

Як основний дезінфікуючий засіб для оброблювальних об'єктів виробничого контуру прийнято пероксигенний препарат на основі пероцтової кислоти або композиції пероцтової кислоти з перекисом водню (робочий розчин 0,2 % пероцтової кислоти). Цей вибір зумовлений широким спектром антимікробної дії (включно з активністю проти бактерій, грибів, вірусів та, за відповідних умов, спор), сумісністю з обладнанням, відсутністю значущих залишків та прийнятним балансом «сила дії – безпека» порівняно зі спиртами, четвертинними амонієвими сполуками та хлорвмісними засобами [17, 19, 20]. Для обробки рук персоналу у роботі рекомендовано використовувати 70 % водневий розчин етилового спирту.

2.3 Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу, підготовка поживного середовища та параметри стерилізації

2.3.1 Схема підготовки посівного матеріалу

Підготовка посівного матеріалу повинна забезпечувати отримання достатньої кількості активної та життєздатної культури для засіву виробничого ферментера. Оскільки у проєкті прийнято виробничий ферментер геометричним об'ємом 50 л з робочим об'ємом 30 л, саме цей об'єм покладено в основу подальшого розрахунку. Прийнято дозу інокуляту 10 % від об'єму поживного середовища, а втрати на стадіях культивування внаслідок крапливиносу через колектор відпрацьованого повітря – 10 %.

					КР.ГЧ.162.01	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		32

2.3.2 Розрахунок кількості інокуляту

Розрахунок кількості інокуляту здійснюється у зворотному порядку.

Виробничий біосинтез здійснюють у ферментері з робочим об'ємом $V_{роб.1} = 30$ л. Кількість поживного середовища у виробничому ферментері:

$$V_{нс1} = V_{роб.1} / (1 + X_{\phi}) = 30 / (1 + 0,1) = 27,27 \text{ л} \quad (2.1)$$

де X_{ϕ} – доза посівного матеріалу для виробничого ферментера (10 %).

Кількість посівного матеріалу для виробничого ферментера:

$$V_{нм1} = V_{роб.1} - V_{нс1} = 30 - 27,27 = 2,73 \text{ л} \quad (2.2)$$

Отже, для засіву виробничого ферментера необхідно підготувати 2,73 л посівного матеріалу.

Для одержання 2,73 л посівного матеріалу в інокуляторі (з урахуванням втрат $E_{ін} = 10$ %):

$$V_{роб.2} = V_{нм1} / (1 - E_{ін}) = 2,73 / (1 - 0,1) = 3,03 \text{ л} \quad (2.3)$$

За коефіцієнта заповнення інокулятора $K_{зап} = 0,6$ можливий геометричний об'єм апарата:

$$V_{ін} = V_{роб.2} / 0,6 = 3,03 / 0,6 = 5,05 \text{ л} \quad (2.4)$$

Приймаємо найближчий стандартний інокулятор геометричним об'ємом 5 л. Уточнений коефіцієнт заповнення:

$$K_{зап.2} = V_{роб.2} / V_{сін} = 3,03 / 5,0 = 0,61 \quad (2.5)$$

Отримане значення перебуває в допустимих межах. Кількість поживного середовища в інокуляторі:

$$V_{нс2} = V_{роб.2} / (1 + X_{ін}) = 3,03 / (1 + 0,1) = 2,75 \text{ л} \quad (2.6)$$

Кількість посівного матеріалу для інокулятора:

$$V_{нм2} = V_{роб.2} - V_{нс2} = 3,03 - 2,75 = 0,28 \text{ л} \quad (2.7)$$

					КР.ГЧ.162.01	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		33

На початковій стадії посівний матеріал доцільно одержувати в качалочних колбах об'ємом 750 мл з коефіцієнтом заповнення 0,2. Робочий об'єм однієї колби:

$$V_{\text{колб}} = 750 \times 0,2 = 150 \text{ мл} \quad (2.8)$$

Кількість колб, необхідних для отримання 0,28 л посівного матеріалу:

$$N_{\text{колб}} = V_{\text{пм2}} / (V_{\text{колби}} \times K_{\text{зк}}) = 280 / (150 \times 0,2) = 1,87 \rightarrow 2 \text{ колби} \quad (2.9)$$

Таким чином, підготовка посівного матеріалу проходитиме у дві стадії: вирощування культури в 2 качалочних колбах об'ємом 750 мл; вирощування в інокуляторі геометричним об'ємом 5 л. Отриманий посівний матеріал у кількості 2,73 л використовують для засіву виробничого ферментера.

2.3.3 Склад поживного середовища

Для всіх стадій культивування (качалочні колби, інокулятор 5 л, виробничий ферментер 50 л) використовують однакове поживне середовище, прийняте для штаму *Ashbya gossypii* ATCC 10895 у розд. 2.1.4. Склад середовища на 1 л, г: соєва олія – 50; Osseocolla – 25; K_2HPO_4 – 2; кукурудзяний екстракт – 20; NaCl – 2. Використання єдиного складу середовища забезпечує поступову адаптацію культури та зменшує ризик пригнічення росту при перенесенні інокуляту між стадіями.

Розрахунок необхідної кількості компонентів на різних виробничих стадіях наведено у табл. 2.5

					КР.ГЧ.162.01	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		34

**Кількість компонентів поживного середовища
на стадіях культивування**

Компонент	На 1 л, г	2 колби (0,30 л), г	Інокулятор 5 л (2,75 л),г	Ферментер 50 л (27,27 л), г
Соева олія	50	15,0	137,5	1363,6
Osseocolla	25	7,5	68,8	681,8
KH ₂ PO ₄	2	0,6	5,5	54,5
Кукурудзяний екстракт	20	6,0	55,0	545,4
NaCl	2	0,6	5,5	54,5

2.3.4 Приготування та стерилізація поживного середовища для колб

Для стадії вирощування посівного матеріалу в 2 качалочних колбах загальний об'єм поживного середовища становить 0,30 л. Середовище готують двома композиціями.

Композиція 1 (водна): Osseocolla – 7,5 г; KH₂PO₄ – 0,6 г; кукурудзяний екстракт – 6,0 г; NaCl – 0,6 г, у воді очищеній з доведенням до робочого об'єму. Стерилізують у термостійкій колбі під ватно-марлевою пробкою в автоклаві при 112 °С упродовж 30 хв.

Композиція 2 (олійна): соєва олія – 15,0 г, стерилізують окремо в термостійкій ємності 50 мл при 112 °С упродовж 30 хв.

Після охолодження композиції в асептичних умовах об'єднують, перемішують і розливають у дві стерильні качалочні колби по 150 мл. За потреби рН доводять стерильними розчинами NaOH або HCl до слабокислого значення (рН=...), що відповідає росту *A. gossypii*.

2.3.5 Приготування та стерилізація поживного середовища для інокулятора 5 л

Для стадії вирощування інокуляту кількість поживного середовища становить 2,75 л. Середовище готують двома композиціями.

Композиція 1 (водна): Osseocolla – 68,8 г; K_2HPO_4 – 5,5 г; кукурудзяний екстракт – 55,0 г; NaCl – 5,5 г, у воді очищеній з доведенням до робочого об'єму. Стерилізують при 112 °C упродовж 30 хв.

Композиція 2 (олійна): соєва олія – 137,5 г, стерилізують окремо при 112 °C упродовж 30 хв.

Стерильну олійну фазу подають в інокулятор асептично після охолодження водної. Перед засівом контролюють і коригують pH до 5,5–6,5 стерильними розчинами HCl або NaOH.

2.3.6 Приготування та стерилізація поживного середовища для ферментера 50 л

Для виробничого біосинтезу кількість поживного середовища становить 27,27 л. На цій стадії доцільно об'єднати всі водорозчинні компоненти в одну композицію, оскільки в обраному середовищі відсутні солі кальцію та магнію, які вимагали б окремої стерилізації через ризик утворення нерозчинних фосфатів.

Композиція 1 (водна): Osseocolla – 681,8 г; K_2HPO_4 – 54,5 г; кукурудзяний екстракт – 545,4 г; NaCl – 54,5 г у воді очищеній з доведенням до робочого об'єму. Готують у ферментері або в окремій змішувальній ємності з подальшою стерилізацією при 121 °C упродовж 20–30 хв (для лабораторних об'ємів допустимо 112 °C, 30 хв).

Композиція 2 (олійна): соєва олія – 1363,6 г, стерилізують окремо при 112 °C упродовж 30 хв.

					КР.ГЧ.162.01	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		36

Після охолодження стерильну олійну композицію вносять у ферментер асептично. Така схема спрощує апаратурне оформлення процесу та зберігає необхідний рівень стерильності.

Висновки до розділу 2

За результатами розділу обґрунтовано вибір біологічного агента (*Ashbya gossypii* ATCC 10895) як штаму з найвищими технологічними та умовно-економічними показниками серед розглянутих продуцентів. Прийнято глибинне аеробне періодичне культивування у стерильному вертикальному ферментаторі мішалкового типу геометричним об'ємом 50 л з робочим об'ємом 30 л. Підготовку посівного матеріалу здійснюють у дві стадії у 2 качалочних колбах об'ємом 750 мл і в інокуляторі геометричним об'ємом 5 л; для засіву виробничого ферментера готують 2,73 л посівного матеріалу. Для всіх стадій культивування використовують єдиний склад поживного середовища, причому водна та олійна фази стерилізуються окремо й об'єднуються асептично.

					КР.ГЧ.162.01	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		37

РОЗДІЛ 3

ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА

3.1 Таксономічний статус

Біологічним агентом, обраним для біосинтезу рибофлавіну в межах цього проєкту, є штам *Ashbya gossypii* ATCC 10895. Згідно з літературними джерелами та базою ATCC [21, 22, 23, 24], повна таксономічна ієрархія штаму виглядає так:

Царство: Fungi (Гриби);

Відділ: *Ascomycota* (Аскомікоти);

Клас: *Saccharomycetes*;

Порядок: *Saccharomycetales*;

Родина: *Eremotheciaceae* (раніше відносили до *Saccharomycetaceae*);

Рід: *Eremothecium*;

Вид: *Eremothecium gossypii* (синонім – *Ashbya gossypii*).

Штам *Ashbya gossypii* ATCC 10895 не є генно-модифікованим організмом і використовується у виробництві рибофлавіну як природний надпродуцент. Він широко представлений у промислових і лабораторних дослідженнях, є базовим референтним штамом для вивчення метаболізму та інженерії штамів-продуцентів рибофлавіну, а його геном секвеновано, що дозволяє використовувати його як модель для вивчення процесів росту та метаболізму у грибів [8, 24, 25].

					КР.ГЧ.162.01			
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата	РОЗДІЛ 3 ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА			
Розробив	Абдураїмов Д.							
Перевірив	Майстренко Л.							
Н.Контр.								
Затвердив					Літ. Аркуш Аркушів Д 38 5 КНУТД, ББТ-22			

3.2 Морфолого-культуральні властивості

3.2.1 Морфологія міцелію

Ashbya gossypii ATCC 10895 – нитчастий аскоміцет, що утворює справжній септований (поділений перегородками) міцелій. Гіфи характеризуються дихотомічним розгалуженням; на ранніх стадіях росту вони ценоцитичні (без перегородок), а з часом утворюються септи. На пізніх стадіях росту формуються аски (сумки) з аскоспорами; спори зазвичай видовжені, голкоподібні або ниткоподібні [21, 22, 23].

Для штаму характерна певна здатність до диморфізму: в умовах глибинного культивування або при змінах складу середовища нитчаста форма може переходити у форму з утворенням окремих клітин, що нагадують дріжджові. Класично, однак, *A. gossypii* розглядається саме як нитчастий гриб [21, 22, 23].

3.2.2 Культуральні ознаки на поживних середовищах

На твердих поживних середовищах (наприклад, картопляно-декстрозному агарі КДА) колонії *Ashbya gossypii* ATCC 10895 формують сухий, зморшкуватий міцелій, часто з піднятим центром. Колір колоній світло-жовтий, кремовий або жовтувато-коричневий; інтенсивність жовтого зростає з віком культури через накопичення рибофлавіну, який дифундує в середовище. Культура має специфічний, слабкий фруктовий або солодкуватий запах [8, 24].

У рідких поживних середовищах при глибинному культивуванні утворюється розгалужений міцелій, який рівномірно розподіляється в об'ємі середовища і надає культуральній рідині характерної жовтуватої забарвленості внаслідок виходу рибофлавіну у позаклітинну фазу.

3.2.3 Особливості росту

Оптимальними параметрами для росту колонії *Ashbya gossypii* ATCC 10895 є: температура: оптимальна 28–30 °С та рН близько 5,5–6,5. Обраний штам добре розвивається на середовищах, багатих на джерела вуглецю (глюкоза, рослинні олії) та органічного азоту (пептон, дріжджовий екстракт, кукурудзяний екстракт). Відмічається відносно швидкий ріст на багатих середовищах [8, 24].

3.3 Фізіолого-біохімічні ознаки

3.3.1 Метаболічні особливості

Ashbya gossypii ATCC 10895 здатний використовувати різні джерела вуглецю – як вуглеводи (глюкоза), так і рослинні олії, що часто застосовують для інтенсифікації утворення рибофлавіну. Штам ефективно метаболізує ліпідну фазу середовища, що є важливою перевагою для рибофлавінового процесу, оскільки соєва олія слугує і джерелом енергії, і прекурсором для біосинтезу [1, 2, 8, 26].

Метаболічно-інженерні штами *A. gossypii* додатково демонструють здатність до біосинтезу γ -лактонів, однак ця функціональність не використовується в межах даної технології [25].

3.3.2 Здатність до надсинтезу рибофлавіну

Основною промисловою ознакою *Ashbya gossypii* ATCC 10895 є здатність до надсинтезу рибофлавіну. У культуральній рідині на середовищі обраного складу досягається концентрація 8,12 г/л за 168 год культивування, що є істотно вищим показником порівняно з бактеріальними продуцентами рибофлавіну (див. розд. 2.1.1). Штам ATCC 10895 використовується як базовий референтний об'єкт для досліджень метаболізму рибофлавіну та як вихідний штам для отримання покращених варіантів [2, 8, 26].

					КР.ГЧ.162.01	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		40

3.3.3 Вимоги до умов культивування

До культивування штаму *Ashbya gossypii* ATCC 10895 висуваються певні умови: обов'язково аеробний мікроорганізм, потребує інтенсивного й безперервного постачання стерильного повітря. Тип живлення: гетеротрофний, джерелами вуглецю виступають вуглеводи та ліпіди, джерела азоту – переважно органічні (пептон, дріжджовий екстракт, кукурудзяний екстракт). Температурний оптимум – 28–30 °C (критичне відхилення вище 35 °C) призводить до пригнічення росту і синтезу. Рівень рН слабокислий (5,5–6,5), оскільки зсув у лужний бік знижує стабільність рибофлавіну та сповільнює ріст культури.

Особливістю культивування є чутливість до жорстких режимів перемішування через міцеліальну морфологію; схильність до піноутворення та зростання в'язкості культуральної рідини. Культивування може здійснюватися у звичайних умовах, але культуральна рідина, що містить рибофлавін чутлива до прямого світла й потребує захисту під час зберігання.

Висновки до розділу 3

Ashbya gossypii ATCC 10895 – нитчастий аскоміцет, природний надпродуцент рибофлавіну з добре відомими морфолого-культуральними та фізіолого-біохімічними характеристиками. Штам росте на середовищах з ліпідною та органічно-азотною основою, потребує аеробного режиму, температури 28–30 °C та слабокислого рН. Сукупність цих ознак повністю узгоджується з обраними в розд. 2 параметрами біосинтезу та підтверджує доцільність використання саме цього штаму у проєктованому виробництві.

					КР.ГЧ.162.01	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		41

РОЗДІЛ 4 ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ

4.1 Поетапна блок-схема технології

4.1.1 Загальна структура технологічного процесу

Технологічна схема отримання рибофлавіну штамом *Ashbya gossypii* ATCC 10895 включає такі основні блоки:

– блок допоміжних робіт (ДР 1–ДР 4): санітарна підготовка виробництва, підготовка стерильного аераційного повітря, приготування титрувальних і допоміжних розчинів, приготування й стерилізація поживного середовища;

– блок основного технологічного процесу (ТП 5–ТП 7): підготовка посівного матеріалу, виробничий біосинтез рибофлавіну, зберігання культуральної рідини;

– блок маркування, тимчасового зберігання та передачі культуральної рідини на подальші стадії виділення та очищення рибофлавіну (ПМВ 8);

– блок знешкодження відходів (ЗВ 9).

Поетапну технологічну схему виробництва рибофлавіну штамом *Ashbya gossypii* ATCC 10895 наведено у додатку А. Схема охоплює стадії допоміжних робіт ДР 1–ДР 4, основного технологічного процесу ТП 5–ТП 7, маркування, тимчасового зберігання та передачі культуральної рідини ПМВ 8, а також знешкодження відходів ЗВ 9.

					КР.ГЧ.162.01			
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата	РОЗДІЛ 4 ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ			
Розробив	Абдураїмов Д.							
Перевірив	Майстренко Л.							
Н.Контр.								
Затвердив					КНУТД, ББТ-22			
					Літ.	Аркуш	Аркушів	
					Д	42	10	

На блок-схемі використано такі умовні позначення контролю: Кт — технологічний контроль, Кх — хімічний або фізико-хімічний контроль, Км — мікробіологічний контроль. Технологічний контроль охоплює перевірку температури, часу, тиску, об'єму, герметичності та режимів проведення операцій. Хімічний або фізико-хімічний контроль передбачає перевірку концентрації розчинів, рН, складу середовища та концентрації рибофлавіну. Мікробіологічний контроль спрямований на перевірку стерильності, чистоти культури та відсутності сторонньої мікрофлори.

Позначення «Продовження ДР 4» на блок-схемі використано для переходу до наступної гілки приготування поживного середовища в межах загального блоку ДР 4. Воно не означає матеріального перенесення середовища з інокулятора до виробничого ферментера.

4.2.1 ДР 1 Санітарна підготовка виробництва

ДР 1.1 Санітарна підготовка виробництва. На початковому етапі проводять санітарну підготовку виробництва, яка включає підготовку персоналу, мийних і дезінфікуючих засобів, ферментера та приміщень. Підготовка персоналу включає навчання персоналу (ДР 1.1.1), медичний огляд (ДР 1.1.2), підготовку виконавчого одягу (ДР 1.1.3) та обробку рук персоналу (ДР 1.1.4). Виконавчий одяг перуть при 90 °С протягом 150 хв і сушать протягом 30 хв. Обробку рук персоналу проводять 70 % етанолом, підготовленим на стадії ДР 1.2.3.

ДР 1.2 Підготовка мийних та дезінфікуючих засобів. Для миття внутрішніх поверхонь ферментера, інокулятора, трубопроводів і ємностей готують 2,0 % розчин гідроксиду натрію: на 1 л розчину зважують 20,0 г NaOH, розчиняють у 800 мл води очищеної, охолоджують і доводять об'єм до 1 л (ДР 1.2.1). Для санітарної обробки приміщень готують 0,2 % робочий розчин пероцтової кислоти: у 986,7 мл води очищеної вносять 13,3 мл 15 %

					КР.ГЧ.162.01	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		43

концентрату пероцтової кислоти (ДР 1.2.2). Для обробки рук персоналу готують 70 % водно-спиртовий розчин: 729 мл 96 % етанолу доводять водою очищеною до 1 л (ДР 1.2.3). Для дезінфекції зовнішніх поверхонь обладнання, кришок апаратів, засівних портів і місць відбору проб використовують 0,2 % розчин пероцтової кислоти (ДР 1.2.4); внутрішні поверхні ферментера після миття піддають стерилізації гострою парою.

ДР 1.3 Підготовка ферментера. Ферментер оглядають на відсутність механічних пошкоджень, корозії та порушень герметичності (ДР 1.3.1). Внутрішні поверхні апарата, мішалку, барботер, штуцери, трубопроводи та арматуру промивають 2,0 % розчином NaOH з ретельним ополіскуванням водою очищеною. Після складання проводять перевірку герметичності апарата, кришки, ущільнень, клапанів, ліній подачі повітря та пробовідбірної вузла (ДР 1.3.2): герметичність є критичною умовою, оскільки виробничий біосинтез триває 168 год. Стерилізацію ферментера проводять гострою парою після попереднього прогрівання глухою парою; стерилізують внутрішній об'єм апарата, комунікації, барботер, пробовідбірний вузол та лінії подачі стерильного повітря, після чого ферментер охолоджують до 28–30 °C (ДР 1.3.3).

ДР 1.4 Підготовка приміщень. Щоденне прибирання (ДР 1.4.1) включає видалення пилу, миття підлоги, обробку робочих поверхонь і дезінфекцію зон, що контактують із персоналом або технологічними матеріалами. Генеральне прибирання (ДР 1.4.2) проводять за встановленим графіком і охоплює повну санітарну обробку приміщень, обладнання, стін, підлоги, вентиляційних решіток та зовнішніх поверхонь апаратів. Для обох видів прибирання використовують мийний розчин від ДР 1.2.1 та дезінфікуючий розчин від ДР 1.2.2.

4.2.2 ДР 2 Підготовка стерильного аераційного повітря

Забір атмосферного повітря (ДР 2.1) здійснюють через повітрозабірник, розташований у зоні з мінімальним ризиком потрапляння пилу, аерозолів і мікробного забруднення. На першій стадії повітря проходить через фільтр

					КР.ГЧ.162.01	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		44

грубої очистки (ДР 2.2), де видаляються пил, механічні домішки та частина аерозольних часток. Очищене повітря подають у компресор, де воно стискається до робочого тиску (ДР 2.3). Стиснене повітря охолоджують у теплообміннику до температури, близької до робочої; конденсат води видаляють у вологовідділювачі або ресивері (ДР 2.4). Після охолодження повітря проходить через головний фільтр, установлений на магістральній лінії перед розгалуженням потоку (ДР 2.5). Безпосередньо перед подачею в інокулятор або ферментер повітря проходить через індивідуальний стерилізуючий фільтр з номінальним розміром пор 0,2–0,22 мкм (ДР 2.6), що забезпечує мікробіологічну стерильність аераційного повітря в момент контакту з культуральною рідиною.

4.2.3 ДР 3 Приготування титрувальних і допоміжних розчинів

ДР 3.1 Приготування 6 % розчину HCl для корекції pH. Для приготування 1 л розчину у хімічно стійку ємність вносять 842 мл води очищеної, після чого при постійному перемішуванні повільно додають 158 мл 38 % HCl (кислоту додають у воду для запобігання інтенсивному тепловиділенню). Розчин використовують для зниження pH середовища до робочого діапазону 5,5–6,5.

ДР 3.2 Приготування 6 % розчину NaOH для корекції pH. Для приготування 1 л розчину зважують 60,0 г NaOH, переносять у термостійку ємність, додають 800 мл води очищеної та перемішують до повного розчинення. Після охолодження доводять водою очищеною до 1 л, закривають ватно-марлевою пробкою та стерилізують в автоклаві при 131 °C упродовж 40 хв. Використовують у разі зниження pH нижче 5,5.

ДР 3.3 Підготовка піногасника. Для контролю піноутворення готують 10 % стерильну емульсію силіконового піногасника: 100 мл силіконового піногасника вносять у 900 мл води очищеної та перемішують до утворення однорідної емульсії. Стерилізують при 112 °C упродовж 30 хв; вносять у

					КР.ГЧ.162.01	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		45

ферментер асептично за сигналом датчика піни або при візуальному виявленні надмірного піноутворення.

4.2.4 ДР 4 Приготування та стерилізація поживного середовища

Для культивування *Ashbya gossypii* ATCC 10895 на всіх стадіях використовують єдиний склад поживного середовища (г/л): соєва олія – 50; Osseocolla / пептон ферментативний – 25; K_2HPO_4 – 2; кукурудзяний екстракт – 20; NaCl – 2.

З огляду на наявність олійної фази середовище готують двома композиціями: композиція 1 – водорозчинні компоненти; композиція 2 – соєва олія. Кількісні розрахунки на стадії наведено в розд. 2.3.3 та табл. 2.5.

ДР 4.1 Приготування та стерилізація середовища для качалочних колб (загальний об'єм 0,30 л; 2 колби по 150 мл). Композиція 1 містить 7,5 г Osseocolla, 0,6 г K_2HPO_4 , 6,0 г кукурудзяного екстракту та 0,6 г NaCl, доведених водою очищеною до робочого об'єму, стерилізують при 112 °C упродовж 30 хв (ДР 4.1.1). Композиція 2 містить 15,0 г соєвої олії, стерилізується окремо у термостійкій ємності 50 мл при 112 °C, 30 хв (ДР 4.1.2). Після охолодження композиції в асептичних умовах об'єднують, перемішують і розливають у дві стерильні качалочні колби по 150 мл (ДР 4.1.3).

ДР 4.2 Приготування та стерилізація середовища для інокулятора 5 л (об'єм середовища 2,75 л). Композиція 1 містить 68,8 г Osseocolla, 5,5 г K_2HPO_4 , 55,0 г кукурудзяного екстракту та 5,5 г NaCl, доводять водою очищеною до робочого об'єму та стерилізують при 112 °C, 30 хв (ДР 4.2.1). Композиція 2 – 137,5 г соєвої олії – стерилізують окремо при 112 °C, 30 хв (ДР 4.2.2). Композиції об'єднують у стерильному інокуляторі, контролюють і коригують рН до 5,5–6,5 розчинами від ДР 3.1 та ДР 3.2, доводять температуру до 28–30 °C, після чого вносять посівний матеріал з качалочних колб (ДР 4.2.3).

ДР 4.3 Приготування та стерилізація середовища для виробничого ферментера 50 л (об'єм середовища 27,27 л). У збірник вносять 681,8 г Osseocolla, 54,5 г KH_2PO_4 , 545,4 г кукурудзяного екстракту та 54,5 г NaCl , доводять водою очищеною до робочого об'єму, перемішують і стерилізують при 121 °С упродовж 20–30 хв (ДР 4.3.1). Композицію 2 – 1363,6 г соєвої олії – стерилізують окремо при 112 °С, 30 хв (ДР 4.3.2). Після охолодження стерильну олійну композицію асептично подають у ферментер, доводять температуру до 28–30 °С, рН – до 5,5–6,5 розчинами від ДР 3.1 та ДР 3.2 (ДР 4.3.3).

4.2.5 ТП 5 Підготовка посівного матеріалу

ТП 5.1 Підтримання колекційної культури. Колекційну культуру *Ashbya gossypii* ATCC 10895 зберігають у пробірках зі скошеним картопляно-декстрозним агаром (КДА) при температурі 4 ± 2 °С. Пересіви здійснюють не рідше одного разу на 3 місяці в асептичних умовах. Перед використанням контролюють характер росту, забарвлення колоній та відсутність сторонньої мікрофлори.

ТП 5.2 Отримання робочої культури. Колекційну культуру пересівають на свіже агаризоване середовище КДА, інкубують за температури 28–30 °С упродовж 48–72 год до появи характерного міцеліального росту. Перед використанням робочу культуру перевіряють за морфолого-культуральними ознаками та мікробіологічною чистотою.

ТП 5.3 Вирощування культури в качалочних колбах. У стерильні качалочні колби з поживним середовищем від ДР 4.1 в асептичних умовах вносять робочу культуру зі стадії ТП 5.2. Колби розміщують на качалці та культивують за температури 28–30 °С і частоти перемішування 130–140 об/хв упродовж 48 год. Перемішування забезпечує достатній контакт культури з киснем без надмірного механічного пошкодження міцелію. Періодично проводять візуальний контроль росту та мікробіологічну чистоту. Отриманий посівний матеріал передають на стадію ТП 5.4.

					КР.ГЧ.162.01	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		47

ТП 5.4 Вирощування інокуляту в інокуляторі об'ємом 5 л. В інокулятор із простерилізованим поживним середовищем від ДР 4.2 в асептичних умовах вносять посівний матеріал з качалочних колб (ТП 5.3). Культивування проводять при температурі 28–30 °С, рН 5,5–6,5, подачі стерильного повітря від ДР 2.6 та перемішуванні 100–130 об/хв упродовж 48 год. Контролюють температуру, рН, піноутворення, мікробіологічну чистоту та візуальний стан культури. Отримують ~2,73 л посівного матеріалу, який передають на стадію ТП 6.1.

4.2.6 ТП 6 Виробничий біосинтез рибофлавіну

ТП 6.1 Засів виробничого ферментера. У підготовлений і простерилізований ферментер 50 л з поживним середовищем від ДР 4.3 в асептичних умовах через стерильну лінію або засівний порт вносять 2,73 л посівного матеріалу від ТП 5.4 після перевірки температури, рН, герметичності апарата та готовності лінії подачі стерильного повітря від ДР 2.6.

ТП 6.2 Виробниче культивування. Спочатку у підготовлений ферментер подають водну композицію поживного середовища від ДР 4.3.1, після чого асептично додають стерильну олійну композицію від ДР 4.3.2. Вмикають перемішування та подачу стерильного аераційного повітря, контролюють відсутність піни, температуру і рН. За потреби рН доводять до 5,5–6,5 розчинами НСІ від ДР 3.1 або NaOH від ДР 3.2. Після стабілізації параметрів вносять посівний матеріал від ТП 5.4 і починають відлік часу культивування.

Культивування здійснюють глибинним періодичним способом у стерильних умовах. Постійно подають стерильне повітря через барботер, забезпечуючи інтенсивний масоперенос кисню. Перемішування підтримують достатнім для масопереносу, але обережним щодо механічного впливу на міцелій.

Таблиця 4.1

Основні параметри виробничого біосинтезу рибофлавіну

Параметр	Значення
Геометричний об'єм ферментера	50 л
Робочий об'єм	30 л
Температура	28–30 °C
pH	5,5–6,5
Тривалість культивування	168 год
Характер процесу	аеробний
Спосіб культивування	глибинний, періодичний
Очікувана концентрація рибофлавіну	8,12 г/л

Під час ферментації періодично відбирають проби культуральної рідини для визначення мікробіологічної чистоти, pH, стану міцелію, наявності піноутворення, концентрації рибофлавіну та ознак контамінації. За результатами контролю проводять коригування pH, подачі повітря, інтенсивності перемішування або вносять піногасник від ДР 3.3.

Після завершення культивування протягом 168 год культуральна рідина містить накопичений рибофлавін у концентрації 8,12 г/л. Кількість продукту за один цикл становить:

$$M_{\text{цикл}} = V_{\text{роб}} \times C = 30 \times 8,12 = 243,6 \text{ г рибофлавіну} \quad (4.1)$$

4.2.7 ТП 7 Зберігання культуральної рідини

ТП 7.1 Передача культуральної рідини у збірник. Після завершення виробничого біосинтезу культуральну рідину від ТП 6.2 за допомогою насоса або стерильної лінії передають у збірник з мінімізацією контакту з навколишнім середовищем для запобігання вторинному забрудненню.

ТП 7.2 Тимчасове зберігання культуральної рідини. Культуральну рідину зберігають у закритому збірнику до початку стадій виділення та очищення рибофлавіну. У процесі зберігання контролюють маркування партії, час завершення ферментації, об'єм культуральної рідини та умови зберігання (температура, захист від світла).

4.2.8 ПМВ 8 Маркування, тимчасове зберігання та передача культуральної рідини

ПМВ 8.1 Маркування проміжного продукту. Після завершення виробничого біосинтезу культуральну рідину, що містить рибофлавін, ідентифікують як проміжний продукт. На ємності або супровідній документації зазначають назву продукту, номер серії, дату й час завершення ферментації, об'єм культуральної рідини, розрахункову концентрацію рибофлавіну, умови тимчасового зберігання та відповідального виконавця.

ПМВ 8.2 Тимчасове зберігання. Культуральну рідину зберігають у закритій світлозахисній ємності до передачі на наступний технологічний етап. Оскільки рибофлавін є світлочутливою сполукою, необхідно обмежувати дію прямого світла та контролювати температуру зберігання.

ПМВ 8.3 Передача культуральної рідини на стадії виділення та очищення рибофлавіну. Після оформлення супровідної документації та проведення проміжного контролю культуральну рідину передають на подальші стадії виділення, очищення та отримання готової форми рибофлавіну. Стадії відділення біомаси, концентрування, очищення, кристалізації та сушіння рибофлавіну винесено за межі даної кваліфікаційної роботи та розглядаються як наступний етап розширення технологічної схеми.

4.2.9 ЗВ Знешкодження відходів

ЗВ 9.1 Знешкодження рідких відходів. До рідких відходів належать залишки поживного середовища, промивні води, залишки титрувальних

					КР.ГЧ.162.01	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		50

розчинів, промивні розчини після миття обладнання та інші технологічні рідини. Перед скиданням їх направляють на локальні або загальнозаводські очисні споруди для нейтралізації та біологічного очищення.

ЗВ 9.2 Знешкодження твердих відходів. До твердих відходів належать використані фільтрувальні матеріали, пакувальні матеріали, залишки біомаси після відділення культуральної рідини та інші тверді відходи. Біомасу *Ashbya gossypii* перед утилізацією знезаражують термічним (автоклавування при 121 °C) або хімічним методом.

ЗВ 9.3 Знешкодження повітряних відходів. Відпрацьоване повітря від інокулятора та ферментера перед викидом у навколишнє середовище направляють у систему очищення повітряних відходів. Це необхідно для запобігання потраплянню аерозолів культуральної рідини та мікробних часток у виробниче середовище.

Висновки до розділу 4

Розроблено технологічну схему отримання рибофлавіну штамом *Ashbya gossypii* ATCC 10895, яка охоплює санітарну підготовку виробництва, підготовку стерильного аераційного повітря, приготування титрувальних і допоміжних розчинів, приготування й стерилізацію поживного середовища, підготовку посівного матеріалу, виробничий біосинтез, зберігання культуральної рідини, маркування, тимчасове зберігання та передачу культуральної рідини на подальші стадії виділення та очищення рибофлавіну та знешкодження відходів. Послідовність та параметри стадій узгоджені з фізіолого-біохімічними особливостями продуцента та результатами розрахунків, наведених у попередніх розділах. За один виробничий цикл одержують культуральну рідину, що містить розрахунково 243,6 г рибофлавіну.

					КР.ГЧ.162.01	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		51

РОЗДІЛ 5 КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

5.1 Методики контролю на стадії біосинтезу

5.1.1 Контроль біологічного агента

Контроль біологічного агента здійснюють перед кожним виробничим циклом і охоплює перевірку морфолого-культуральних ознак та мікробіологічної чистоти культури *Ashbya gossypii* ATCC 10895.

Морфологічний контроль передбачає пряму мікроскопію препаратів культури в роздавленій краплі та фарбованих препаратів за стандартними мікологічними методиками з фіксацією характеру міцелію, наявності септ та особливостей розгалуження гіф.

Контроль культуральних ознак – гляд колоній на агаризованому середовищі КДА після 48–72 год інкубації при 28–30 °С з фіксацією форми, кольору (світло-жовтий до жовтувато-коричневого), консистенції та запаху.

Контроль мікробіологічної чистоти – висів культури на елективні та диференціально-діагностичні середовища (МПА, Сабуро, тіогліколеве середовище) для виключення наявності сторонньої бактеріальної, дріжджової та грибної мікрофлори.

Методологію контролю мікробіологічної чистоти адаптують з урахуванням загальних фармакопейних підходів до випробувань на стерильність та мікробіологічну чистоту, наведених у Державній Фармакопеї України [5].

					КР.ГЧ.162.01			
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата	РОЗДІЛ 5 КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ			
Розробив	Абдураїмов Д.							
Перевірив	Майстренко Л.							
Н.Контр.								
Затвердив					КНУТД, ББТ-22			
					Літ. Аркуш Аркушів			
					Д 52 6			

5.1.2 Контроль поживного середовища

Контроль поживного середовища передбачає контроль рН та стерильності поживного середовища, а також хімічний контроль його складу.

Контроль концентрації основних компонентів (Osseocolla, кукурудзяний екстракт, KH_2PO_4 , NaCl) виконують за результатами зважування на аналітичних вагах.

Контроль рН перед стерилізацією та після стерилізації середовища виконують потенціометричним методом (рН-метр з комбінованим електродом): цільовий діапазон 5,5–6,5; коригування – розчинами від ДР 3.1 (HCl 6 %) та ДР 3.2 (NaOH 6 %).

Контроль стерильності поживного середовища після стерилізації передбачає відбір проби з кожної ємності й висів на МПА і середовище Сабуро з подальшим інкубуванням при 30 °С та 25 °С відповідно протягом 48–72 год; відсутність росту свідчить про стерильність.

5.1.3 Контроль стерильності аераційного повітря

Контроль стерильності аераційного повітря передбачає перевірку цілісності стерилізуючих фільтрів, валідацію стерилізуючої здатності фільтра та періодичний відбір проб повітря з лінії після індивідуального фільтра з седиментацією на чашки.

Перевірка цілісності стерилізуючих фільтрів 0,2–0,22 мкм методом точки пухирця (bubble point test) або тестом утримання тиску згідно зі специфікаціями виробника фільтра.

Валідація стерилізуючої здатності фільтра – за тестом із *Brevundimonas diminuta* (за стандартом ASTM F838) при початковому пуску виробництва та після кожної заміни фільтрувального елемента.

Періодичний відбір проб повітря з лінії після індивідуального фільтра з седиментацією на чашки з МПА або імпактором; інкубація при 30 °С, 48 год; результат – не більше встановленої кількості КУО на чашку.

					КР.ГЧ.162.01	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		53

5.1.4 Контроль параметрів ферментації

Цей вид контролю передбачає контроль температури, рН, вмісту розчиненого кисню, витрати та тиску аераційного повітря, швидкості обертання мішалки, рівню піни та мікробіологічної чистоти, морфології міцелію та концентрації рибофлавіну. Параметри, методи, періодичність контролю детально описані у табл. 5.1

Таблиця 5.1

Перелік параметрів і методів контролю біосинтезу рибофлавіну

Параметр	Точка контролю	Метод / прилад	Періодичність
Температура, 28–30 °С	ферментер, інокулятор	датчик температури Pt-100	безперервно
рН, 5,5–6,5	ферментер, інокулятор	стерилізовний рН-електрод	безперервно
Розчинений кисень (DO)	ферментер	полярографічний / оптичний DO-датчик	безперервно
Витрата та тиск аераційного повітря	лінія подачі повітря	витратомір, манометр	безперервно
Швидкість обертання мішалки	ферментер, інокулятор	датчик обертів двигуна мішалки	безперервно
Рівень піни	ферментер	ємнісний/кондуктометричний датчик піни	безперервно; внесення піногасника ДР 3.3 за сигналом
Мікробіологічна чистота	проба з ферментера	висів на МПА, Сабуро, тіогліколеве середовище	кожні 24 год
Морфологія міцелію	проба з ферментера	пряма мікроскопія	кожні 24 год
Концентрація рибофлавіну	проба культуральної рідини	УФ-спектрофотометрія при 444 нм; ВЕРХ	кожні 24 год починаючи з 48-ї год

Концентрація біомаси	проба культуральної рідини	гравіметрія сухої маси після центрифугування й висушування	кожні 24 год
----------------------	----------------------------	--	--------------

5.1.5 Контроль мікробіологічної чистоти культуральної рідини

Мікробіологічну чистоту культуральної рідини контролюють методом прямого висіву проб на низку селективних та неселективних середовищ:

МПА (м'ясо-пептонний агар) при 30 °С та 37 °С, 48 год – на присутність бактеріальних контамінантів;

Сабуро з хлорамфеніколом при 25 °С, 5–7 діб – на присутність сторонні дріжджів та грибів-контамінантів;

тіогліколеве середовище – на присутність анаеробних і факультативно-анаеробних мікроорганізмів.

За появи росту, відмінного від характерного для *Ashbya gossypii*, цикл вважається контамінованим, а культуральну рідину направляють на знешкодження (ЗВ 9.1) і виключають із подальшої обробки.

5.2 Методи контролю цільового продукту

5.2.1 Ідентифікація рибофлавіну

Ідентифікацію рибофлавіну виконують методами УФ-спектрофотометрії, тонкошарової хроматографії та високоефективна рідинна хроматографії.

УФ-спектрофотометрія: характерні максимуми поглинання водного розчину рибофлавіну при 223, 267, 373 та 444 нм; співвідношення A_{373}/A_{444} використовується як один із показників ідентичності [5, 6].

Тонкошарова хроматографія (ТШХ): порівняння R_f з R_f стандартного зразка рибофлавіну на пластинках із силікагелем у системі розчинників, передбаченій фармакопейною методикою; характерна жовто-зелена флуоресценція в УФ-світлі (366 нм).

Високоєфективна рідинна хроматографія (ВЕРХ): зворотно-фазовий режим (колонка C18, рухома фаза – суміш ацетатного буфера й метанолу), детектування за УФ-поглинанням при 267 або 444 нм; підтвердження ідентичності – за часом утримання порівняно зі стандартом.

5.2.2 Кількісне визначення рибофлавіну

Кількісне визначення рибофлавіну в культуральній рідині та готовому продукті проводять двома взаємодоповнюючими методами: УФ-спектрофотометрії та високоєфективної рідинної хроматографії.

УФ-спектрофотометрія при 444 нм: пробу культуральної рідини після відділення біомаси (центрифугування 5000–8000 об/хв, 10–15 хв) та відповідного розведення вимірюють у кварцовій кюветі. Концентрацію розраховують за калібрувальним графіком, побудованим за стандартами рибофлавіну (наприклад, 0,5–10,0 мкг/мл) у тому ж розчиннику. Допустима похибка вимірювань – $\leq 5\%$.

Високоєфективна рідинна хроматографія (ВЕРХ) з УФ- або флуоресцентним детектуванням ($\lambda_{36} = 444$ нм, $\lambda_{cm} = 525$ нм) – метод вибору при необхідності кількісного визначення рибофлавіну у присутності супутніх флавінових сполук (ФАД, ФМН) або при контролі домішок.

5.2.3 Контроль чистоти та стабільності

Контроль вмісту домішок виконують методом ВЕРХ за фармакопейною методикою [5] з визначенням допустимих рівнів окремих та сумарних домішок флавінового ряду.

Контроль вмісту вологи – методом висушування або методом Карла Фішера (для сухих лікарських форм).

Контроль мікробіологічної чистоти готового продукту – відповідно до ДФУ [5]; для офтальмологічних форм – контроль стерильності за ДФУ [5].

					КР.ГЧ.162.01	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		56

Контроль стабільності – періодичне зберігання зразків при різних температурно-світлових режимах і контроль вмісту діючої речовини методами ідентифікації та кількісного визначення.

5.2.4 Контроль умов зберігання

Готовий рибофлавін як кристалічна речовина чутливий до прямого світла та лужного середовища. Умови зберігання:

- температура: 15–25 °С (для офтальмологічних форм – відповідно до інструкції);
- захист від світла: в темному скляному посуді або непрозорій тарі;
- захист від вологи: герметична тара, можливе застосування осушувача.

Контроль умов зберігання здійснюють шляхом моніторингу температури та вологості у складських приміщеннях, а також періодичної перевірки цілісності упаковки готового продукту.

Висновки до розділу 5

У розділі обґрунтовано систему контролю якості, яка охоплює як стадії біосинтезу (контроль біологічного агента, поживного середовища, стерильності аераційного повітря, параметрів ферментації та мікробіологічної чистоти культуральної рідини), так і параметри цільового продукту (ідентифікація, кількісне визначення, контроль чистоти та умов зберігання). Запропонована система контролю узгоджується з вимогами Державної Фармакопеї України та Європейської Фармакопеї до якості рибофлавіну.

					КР.ГЧ.162.01	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		57

ВИСНОВКИ

У роботі обґрунтовано доцільність розроблення біотехнологічного виробництва рибофлавіну як біологічно активної речовини медико-біологічного призначення. Показано, що рибофлавін є важливим водорозчинним вітаміном, який бере участь в окисно-відновних реакціях клітини та має практичне значення для медичного застосування, зокрема у процедурі корнеального колагенового крос-лінкінгу при лікуванні кератоконусу.

На підставі аналізу морфолого-культуральних, фізіолого-біохімічних і технологічних характеристик встановлено, що штам *Ashbya gossypii* ATCC 10895 є найбільш доцільним біологічним агентом для синтезу рибофлавіну серед розглянутих продуцентів. Обраний штам забезпечує найвищу концентрацію цільового продукту – 8,12 г/л, найвищу об'ємну продуктивність – 0,048–0,05 г/л·год та найнижчу умовну вартість 1 г рибофлавіну – 9,05 грн/г.

Визначено практичну потребу в рибофлавіні для двох основних напрямків застосування: використання у процедурі корнеального колагенового крос-лінкінгу при лікуванні кератоконусу та потенційного застосування у складі засобів метаболічної підтримки при дисплазії кісток і суглобів. Сумарна річна потреба у цільовому продукті прийнята на рівні 541,7 г/рік, а з урахуванням технологічного запасу – 650,0 г/рік.

Встановлено, що для покриття розрахункової річної потреби достатньо проведення 3 виробничих циклів на рік; фактичний річний випуск становитиме 730,8 г/рік, що забезпечує повне покриття потреби у цільовому продукті та створює технологічний резерв.

					КР.ГЧ.162.01			
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата	ВИСНОВКИ			
Розробив		Абдураїмов Д.						
Перевірив		Майстренко Л.						
Н.Контр.								
Затвердив					КНУТД, ББТ-22			
					Літ.	Аркуш	Аркушів	
					Д	58	2	

Обґрунтовано, що біосинтез рибофлавіну доцільно здійснювати глибинним періодичним способом у стерильних умовах із використанням вертикального ферментатора мішалкового типу з аерацією. Такий вибір зумовлений аеробним характером процесу, міцеліальною природою продуцента, підвищенням в'язкості культуральної рідини та необхідністю контролю температури (28–30 °C), pH (5,5–6,5), розчиненого кисню і рівня піноутворення.

Розроблено технологічну схему виробництва рибофлавіну, яка охоплює санітарну підготовку, підготовку аераційного повітря, приготування титрувальних і допоміжних розчинів, приготування й стерилізацію поживного середовища, підготовку посівного матеріалу, виробничий біосинтез, зберігання культуральної рідини, маркування, тимчасове зберігання та передачу культуральної рідини на подальші стадії виділення й очищення рибофлавіну, а також знешкодження відходів. Обрано методики контролю якості на стадіях біосинтезу та для готового цільового продукту відповідно до вимог ДФУ та Європейської Фармакопеї.

У роботі теоретично та розрахунково обґрунтовано можливість організації біотехнологічного виробництва рибофлавіну з використанням штаму *Ashbya gossypii* ATCC 10895. Запропонована технологічна схема узгоджена з біологічними особливостями продуцента, забезпечує покриття встановленої річної потреби у продукті та підтверджує практичну доцільність подальшого впровадження такого виробництва.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Averianova L. A., Balabanova L. A., Son O. M., Podvolotskaya A. B., Tekutyeva L. A. Production of Vitamin B2 (Riboflavin) by Microorganisms: An Overview. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 2020. Vol. 8. P. 570828. DOI: 10.3389/fbioe.2020.570828.

2. Aguiar T. Q., Silva R., Domingues L. Ashbya gossypii beyond industrial riboflavin production: A historical perspective and emerging biotechnological applications. *Biotechnol. Adv.* 2015. Vol. 33, № 8. P. 1774–1786. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2015.10.001.

3. Riboflavin – Fact Sheet for Health Professionals. NIH Office of Dietary Supplements. URL: <https://ods.od.nih.gov/factsheets/Riboflavin-HealthProfessional/> (дата звернення: 16.04.2026).

4. O’Brart D. P. Corneal collagen cross-linking: a review. *J. Optom.* 2014. Vol. 7, № 3. P. 113–124. DOI: 10.1016/j.optom.2013.12.001.

5. Державна Фармакопея України : в 3 т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-ге вид. – Харків : ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014–2015.

6. European Pharmacopoeia. 10th edition. Riboflavin (monograph 0292). Strasbourg : European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM), 2020.

7. Hashemi H., Heydarian S., Hooshmand E. et al. The prevalence and risk factors for keratoconus: a systematic review and meta-analysis. *Cornea.* 2020. Vol. 39, No. 2. P. 263–270. DOI: 10.1097/ICO.0000000000002150.

8. Wei S., Hurley J., Jiang Z., Wang S., Wang Y. Isolation and characterization of an Ashbya gossypii mutant for improved riboflavin production. *Braz. J. Microbiol.* 2012. Vol. 43, № 2. P. 441–448. DOI: 10.1590/S1517-83822012000200002.

					КР.ГЧ.162.01			
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата	СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	Літ.	Аркуш	Аркушів
Розробив	Абдураїмов Д.					Д	60	5
Перевірив	Майстренко Л.							
Н.Контр.						КНУТД, ББТ-22		
Затвердив								

9. Abd-Alla M. H., Bagy M. M. K., Nafady N. A., Morsy F. M., Mahmoud G. A.-E. Activation of Riboflavin Production by *Bacillus subtilis* (KU559874) and *Bacillus tequilensis* (KU559876). *EC Bacteriology and Virology Research*. 2016. Vol. 2, № 4. P. 131–150.

10. Yang B., Sun Y., Fu S., Xia M., Su Y., Liu C., Zhang C., Zhang D. Improving the Production of Riboflavin by Introducing a Mutant Ribulose 5-Phosphate 3-Epimerase Gene in *Bacillus subtilis*. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 2021. Vol. 9. Article 704650. DOI: 10.3389/fbioe.2021.704650.

11. Пакет посилань на комерційні джерела для середовища ферментера:

11.1. Масло рапсове рафіноване. URL: <https://prom.ua/ua/p2178565740-maslo-rapsovoe-raf.html> (дата звернення: 01.06.2026).

11.2. Пептон ферментативний. URL: <https://prom.ua/ua/p2078708599-pepton-fermentativnyj.html> (дата звернення: 01.06.2026).

11.3. Сіль кам'яна харчова. URL: <https://prom.ua/ua/p2395417479-sol-5kg-kamennaya.html> (дата звернення: 01.06.2026).

11.4. Калій фосфорнокислий двозаміщений. URL: <https://himreagent.com.ua/ua/p1091383043-kalij-fosfornokislyj-zameschennyj.html> (дата звернення: 01.06.2026).

11.5. Екстракт дріжджів. URL: <https://prom.ua/ua/p1086437845-ekstrakt-drozhzhej.html> (дата звернення: 01.06.2026).

11.6. Глюкоза фармакопейна. URL: <https://www.systopt.com.ua/item-glyukoza-farmakorejna> (дата звернення: 01.06.2026).

11.7. Сульфат амонію. URL: <https://agreemarket.com.ua/udobrenija/mineralnye-udobrenija/sulphat-ammonija-n-21s-24-1-kg.html> (дата звернення: 01.06.2026).

11.8. Калій фосфорнокислий двозаміщений (калію фосфат двозаміщений). URL: <https://www.systopt.com.ua/item-kalij-fosfornokyslyj-kaliyu-fosfat-2-zamishhenyj> (дата звернення: 01.06.2026).

11.9. Сахароза. URL: <https://prom.ua/ua/p5251530-saharoza.html> (дата звернення: 01.06.2026).

11.10. Ліквід CSL (Corn Steep Liquor). URL: <https://prom.ua/ua/p1617330135-likvid-csl-corn.html> (дата звернення: 01.06.2026).

11.11. Сульфат магнію технічний. URL: <https://ukrchemgroup.com/ua/p783600334-sulfat-magniya-teh.html> (дата звернення: 01.06.2026).

12. Biostat® D-DCU. Stainless Steel Fermentation Systems. Sartorius Stedim Biotech. URL: <https://www.sartorius.com/en/products/fermentation-bioreactors/stainless-steel-bioreactors/biostat-d-dcu> (дата звернення: 01.06.2026).

13. BioFlo® Pro. Pilot-to-Production SIP Fermentation Systems. Eppendorf SE. URL: https://www.eppendorf.com/product-media/doc/en/144674_Brochure/New-Brunswick_Fermentors-Bioreactors_Brochure_BioFlo-Pro.pdf (дата звернення: 01.06.2026).

14. Techfors-S. Compact Stainless Steel Bioreactor. INFORS HT. URL: <https://infors-ht.com/en/products/bioreactors/pilot-bioreactors/techfors-s> (дата звернення: 01.06.2026).

15. Na J., Suh D., Cho Y. H., Baek Y. Comparative Evaluation of the Performance of Sterile Filters for Bioburden Protection and Final Fill in Biopharmaceutical Processes. *Membranes (Basel)*. 2022. Vol. 12, № 6. P. 609. DOI: 10.3390/membranes12060609.

16. Rutala W. A., Weber D. J. Disinfection and Sterilization in Health Care Facilities: *An Overview and Current Issues*. *Infect. Dis. Clin. North Am.* 2016. Vol. 30, № 3. P. 609–637. DOI: 10.1016/j.idc.2016.04.002.

17. Artasensi A., Mazzotta S., Fumagalli L. Back to Basics: Choosing the Appropriate Surface Disinfectant. *Antibiotics (Basel)*. 2021. Vol. 10, № 6. P. 613. DOI: 10.3390/antibiotics10060613.

18. Pant K. J., Cotter P. D., Wilkinson M. G., Sheehan J. J. Towards sustainable Cleaning-in-Place (CIP) in dairy processing: Exploring enzyme-based

approaches to cleaning in the Cheese industry. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 2023. Vol. 22, № 6. P. 4985–5005. DOI: 10.1111/1541-4337.13245.

19. Chemical Disinfectants. Guideline for Disinfection and Sterilization in Healthcare Facilities. CDC. URL: <https://www.cdc.gov/infection-control/hcp/disinfection-sterilization/chemical-disinfectants.html> (дата звернення: 01.06.2026).

20. Boyce J. M. Quaternary ammonium disinfectants and antiseptics: tolerance, resistance and potential impact on antibiotic resistance. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*. 2023. Vol. 12. Article 32. DOI: 10.1186/s13756-023-01241-z.

21. Kurtzman C. P., Robnett C. J. Phylogenetic relationships among yeasts of the «*Saccharomyces complex*» determined from multigene sequence analyses. *FEMS Yeast Res.* 2003. Vol. 3, № 4. P. 417–432. DOI: 10.1016/S1567-1356(03)00012-6.

22. Prillinger H., Schweigkofler W., Breitenbach M. et al. Phytopathogenic filamentous (*Ashbya*, *Eremothecium*) and dimorphic fungi (*Holleya*, *Nematospora*) with needle-shaped ascospores as new members within the *Saccharomycetaceae*. *Yeast*. 1997. Vol. 13, № 10. P. 945–960.

23. Kurtzman C. P. Relationships among the genera *Ashbya*, *Eremothecium*, *Holleya* and *Nematospora* determined from rDNA sequence divergence. *J. Ind. Microbiol.* 1995. Vol. 14, № 6. P. 523–530.

24. ATCC 10895 – *Ashbya gossypii*. American Type Culture Collection. URL: <https://www.atcc.org/products/10895> (дата звернення: 16.04.2026).

25. Silva R., Aguiar T. Q., Coelho E., Jiménez A., Revuelta J. L., Domingues L. Metabolic engineering of *Ashbya gossypii* for deciphering the de novo biosynthesis of γ -lactones. *Microb. Cell Fact.* 2019. Vol. 18, № 1. P. 62. DOI: 10.1186/s12934-019-1113-1.

26. Dessipri E. (reviewed by Smith J., Walch S., Srinivasan J.). Riboflavin from *Ashbya gossypii*: Chemical and Technical Assessment (CTA). FAO. URL: <https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/70910278-fc3b-460e-9197-a131d5477619/content> (дата звернення: 16.04.2026).

					КР.ГЧ.162.01	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		63

ДОДАТКИ

					КР.ГЧ.162.01	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		64

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ НАЦІОНАЛЬНИЙ
ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
КАФЕДРА ПРОМИСЛОВОЇ ТЕХНОЛОГІЇ ЛІКІВ ТА КОСМЕТИЧНИХ
ЗАСОБІВ КАФЕДРА АПТЕЧНОЇ ТЕХНОЛОГІЇ ЛІКІВ

MINISTRY OF HEALTH OF UKRAINE
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY
DEPARTMENT OF INDUSTRIAL TECHNOLOGY OF MEDICINES AND
COSMETICS DEPARTMENT OF DRUG TECHNOLOGY



Матеріали

ХІІ Міжнародної науково-практичної конференції
Proceedings of the XII International Scientific and Practical Conference

СУЧАСНІ ДОСЯГНЕННЯ
ФАРМАЦЕВТИЧНОЇ ТЕХНОЛОГІЇ

MODERN ACHIEVEMENTS
OF PHARMACEUTICAL TECHNOLOGY

9 квітня 2026 р.
April 9, 2026
Харків, Україна
Kharkiv, Ukraine

extract of *Hamamelis virginiana* and the dry extract of *Arnica montana* were chosen as active ingredients.

Aim of the study To develop the composition of a cream based on the dry extracts.

Methods The physicochemical properties of the dry extracts were studied, including microscopic and dispersion analysis of particles. The solubility of the extracts in various solvents was determined. Rheological properties were investigated using a rotational viscometer MYR VR3000.

Main results Microscopic studies showed that the particles of the dry extracts have different shapes and sizes, which affects the homogeneity of the cream. Solubility studies revealed that the systems glycerin : purified water (1:3) and purified water are advisable for the rational incorporation of the extracts.

When selecting the cream base, the best indicators of appearance, homogeneity, spreadability, and absence of phase separation were demonstrated by the sample on an emulsion base containing emulsifying wax, medical vaseline oil, and Tween-80 as an emulsifier.

Conclusions As a result of the conducted research, the composition of a cream based on the dry extracts of *Hamamelis virginiana* and *Arnica montana* for the treatment of phlebitis has been developed. The choice of excipients was substantiated based on indicators of homogeneity, rheological properties, and drying capacity.

ПЕРСПЕКТИВИ БІОСИНТЕЗУ РИБОФЛАВІНУ В УКРАЇНІ

Абдураїмов Д. А.

Київський національний університет технологій та дизайну

м. Київ, Україна

danepsilon86@gmail.com

Вступ. Рибофлавін (вітамін В2) є ключовим елементом метаболічних процесів, будучи складовою частиною флавінових коферментів. Світовий ринок цього вітаміну демонструє стабільне зростання, однак в Україні залишається високий рівень залежності від імпорту. Розробка вітчизняних біотехнологічних потужностей є актуальним питанням біоекономіки та національної безпеки.

Мета дослідження – провести порівняльний аналіз сучасних біотехнологічних підходів до виробництва рибофлавіну та визначити перспективи створення його промислового виробництва в Україні.

Методи дослідження – бібліометричний та бета-аналіз, пошуковий і порівняльний підходи.

Основні результати. Мікробіологічний метод синтезу рибофлавіну є більш екологічним та економічно раціональним у порівнянні з хімічним. Дослідження в Україні сфокусовані переважно на розробці високоактивних штамів-продуцентів, зокрема дріжджів *Candida famata* та грибів *Ashbya gossypii*. Також вивчено регуляторні механізми генів, залучених у біосинтез пуринів – попередників рибофлавіну, що відкриває можливість створення штамів із підвищеною здатністю до його синтезу. Особливий інтерес становить використання агропромислових відходів, таких як меляса та сироватка, що дозволить знизити собівартість готової продукції до 30 %. Також перспективним напрямком є розширення застосування рибофлавіну як фотосенсибілізатора в медицині, що потребує високочистих субстанцій.

Висновки. Для реалізації потенціалу біосинтезу рибофлавіну та подолання імпортозалежності необхідна технологічна модернізація ферментаційних потужностей у поєднанні з державною підтримкою інноваційних біотехнологічних стартапів.

ПРОТИМІКРОБНА АКТИВНІСТЬ КОМБІНАЦІЙ АМІНОГЛІКОЗИДІВ З ГУСТИМ ЕКСТРАКТОМ ПЛОДІВ ARONIA MELANOCARPA

Андреєва І. Д., Осолодченко Т. П., Мартинов А. В., Завада Н. П.

**ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова
Національної академії медичних наук України», м. Харків, Україна**

idandreyeva@gmail.com

Вступ. В умовах прогресуючої антибіотикорезистентності розробка засобів протимікробної дії на основі рослинної сировини є актуальним напрямком.

ЗМІСТ

PRE-FILLED SYRINGES ON THE UKRAINIAN MARKET	3
Bobrytska L.O., Hrytsenko V.I., Petrovska L.S., Kovalov V.V.	
INTEGRATED CHEMICAL AND BIOLOGICAL ASSESSMENT OF	8
RHODODENDRON TOMENTOSUM HARMAJA EXTRACTS	
Halyna Kukhtenko, Izabela Jasicka-Misiak	
COMPARISON OF MULTI-CRITERIA OPTIMIZATION METHODS IN	9
PHARMACEUTICAL DEVELOPMENT	
Kutova O.V., Kovalevska I.V.	
STUDY OF MICROSCOPIC DIAGNOSTIC SIGNS OF THE	11
STRUCTURE OF THE BORAGE HERB VARIETY STRUMOK	
Mashtaler V.V., Gontova T.M., Romanova S.V.	
DEVELOPMENT OF THE COMPOSITION OF CHEWABLE TABLETS	12
BASED ON DRY EXTRACTS FOR UROLOGICAL USE	
Nikitenko O. L., Kryklyva I. O., Sichkar A. A.	
A SOCIOLOGICAL STUDY OF THE ASSESSMENT OF THE ROLE OF	18
PHARMACEUTICAL CARE DURING THE CORRECTION OF	
PSYCHO-EMOTIONAL CONDITIONS	
Pokotylo O.O., Lokot M.V.	
ANALYSIS OF CURRENT APPROACHES TO THE TREATMENT OF	20
LYME ARTHRITIS	
Pokotylo O., Stepaniuk A.	
ASSESSMENT OF THE RATIONAL USE OF ANTIDEPRESSANTS OF	23
THE SSRI GROUP USING VEN-ANALYSIS	
Pokotylo O.O., Lutsiuk A.O.	
DEVELOPMENT OF THE COMPOSITION OF A GEL FOR THE	26
TREATMENT OF INFLAMMATORY SKIN DISEASES	
Puliaiev D.S., Nezhurin M.O.	
DEVELOPMENT OF THE COMPOSITION OF A SOFT DOSAGE FORM	27
FOR THE TREATMENT OF PHLEBITIS	
Puliaiev D.S., Kurtmalaieva V.O.	
ПЕРСПЕКТИВИ БІОСИНТЕЗУ РИБОФЛАВІНУ В УКРАЇНІ	28
Абдураїмов Д. А.	