

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ**

**Інститут (факультет) біотехнології та екологічного контролю  
Кафедра біотехнології і мікробіології**

**«До захисту в ЕК»**

Декан факультету

Наталія ГРЕГІРЧАК

(підпис)

(ім'я та прізвище)

« 02 » грудня 2024 р.

**«До захисту допущено»**

Завідувач кафедри

Віктор СТАБНІКОВ

(підпис)

(ім'я та прізвище)

« 02 » грудня 2024 р.

**КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА  
НА ЗДОБУТТЯ ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ МАГІСТРА**

зі спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія»

(код та назва спеціальності)

освітньо-професійної програми «Промислова та фармацевтична  
біотехнологія»

на тему: «Фототрофні мікроорганізми у біотехнологічних процесах»

Виконав: здобувач(-ка) II курсу, групи 01

КРАВЧЕКО Вадим Володимирович

(прізвище, ім'я, по батькові повністю)

(підпис)

Керівник ПИРОГ Тетяна Павлівна

(прізвище, ім'я та по батькові повністю)

(підпис)

Консультанти

(ім'я та прізвище)

(підпис)

(ім'я та прізвище)

(підпис)

Рецензент

(ім'я та прізвище)

(підпис)

Я, як здобувач(-ка) Національного університету харчових технологій, розумію і підтримую політику університету з академічної доброчесності. Я не надавав(-ла) і не одержував(-ла) недозволеної допомоги під час підготовки цієї роботи. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

Здобувач(-ка) \_\_\_\_\_

(підпис)

Київ – 2024 р.

# НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Інститут (факультет) Біотехнології та екологічного контролю

Кафедра біотехнології і мікробіології

Освітній ступінь магістр

Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»  
(код і назва)

Освітньо-професійна програма «Промислова та фармацевтична біотехнологія»  
(назва)

## ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри біотехнології і мікробіології

Віктор СТАБНИКОВ

“ 08 ” жовтня 2024 року

## ЗАВДАННЯ

### НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

Кравченко Вадим Володимирович

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи Фототрофні мікроорганізми у біотехнологічних процесах

керівник роботи проф., д.б.н. Пирог Т.П.,  
(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)

затверджені наказом закладу вищої освіти від 07 жовтня 2024р. № 875-кс

2. Строк подання здобувачем роботи 01.12.2024

3. Вихідні дані до роботи Біологічний агент: *Synechocystis* sp. PCC 6714/MT a24. Продукт: полігидроксибутират.

4. Зміст пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити) Огляд літератури. Техніко-економічне обґрунтування виробництва полігидроксибутирату. Обґрунтування вибору післяферментаційних процесів отримання полігидроксибутирату. Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіях. Специфікація обладнання для отримання полігидроксибутирату. Опис технологічної схеми післяферментаційного виділення та очищення полігидроксибутирату. Контроль виробництва полігидроксибутирату. Технологічний процес виробництва біоупаковки на основі полігидроксибутирату

5. Перелік графічного матеріалу

Технологічна схема: 1 аркуш формату А2. Апаратурна 1 аркуш формату А1

## 6. Консультанти розділів роботи

| Розділ | Прізвище, ініціали та посада консультанта | Підпис, дата   |                  |
|--------|---|----------------|------------------|
|        |   | завдання видав | завдання прийняв |
|        |   |                |                  |
|        |   |                |                  |

7. Дата видачі завдання 08 жовтня 2024 року

## КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

| №   | Назва етапів виконання кваліфікаційної роботи   | Строк виконання етапів роботи | Примітка |
|-----|---|-------------------------------|----------|
| 1.  | РОЗДІЛ 1. Огляд літератури  | 07.10.2024-20.10.2024         | Виконано |
| 2.  | РОЗДІЛ 2. Техніко-економічне обґрунтування виробництва полігидроксипропілату                        | 21.10.2024-27.10.2024         | Виконано |
| 3.  | РОЗДІЛ 3. Обґрунтування вибору післяферментаційних процесів отримання полігидроксипропілату         | 28.10.2024-01.11.2024         | Виконано |
| 4.  | РОЗДІЛ 4. Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіях            | 02.11.2024-04.11.2024         | Виконано |
| 5.  | РОЗДІЛ 5. Специфікація обладнання для отримання полігидроксипропілату                               | 04.11.2024-07.11.2024         | Виконано |
| 6.  | РОЗДІЛ 6. Опис технологічної схеми післяферментаційного виділення та очищення полігидроксипропілату | 07.11.2024-10.11.2024         | Виконано |
| 7.  | РОЗДІЛ 7. Контроль виробництва полігидроксипропілату  | 10.11.2024-11.11.2024         | Виконано |
| 8.  | РОЗДІЛ 8. Технологічний процес виробництва біоупаковки на основі полігидроксипропілату              | 11.11.2024-12.11.2024         | Виконано |
| 9.  | Графічна частина  | 12.11.2024-13.11.2024         | Виконано |
| 10. | Оформлення роботи та посилань   | 13.11.2024-14.11.2024         | Виконано |

Здобувач \_\_\_\_\_  
(підпис)

Керівник роботи \_\_\_\_\_  
(підпис)

Вадим КРАВЧЕНКО \_\_\_\_\_  
(ім'я та прізвище)

Тетяна ПИРОГ \_\_\_\_\_  
(ім'я та прізвище)

## ABSTRACT

The topic of the qualification work concerns the development of a technological and apparatus scheme for the process of isolation and purification of polyhydroxybutyrate (PHB), which is synthesized during the cultivation of *Synechocystis* sp. PCC 6714/MT\_a24 in a photobioreactor.

The paper examines promising areas of polyhydroxybutyrate use and defines the current area of use in which this product is most in demand, namely the use of this product for the packaging containers manufacturing. Based on the chosen field of use, the annual need for bioplastic was calculated, taking into account its decomposition properties, it was assumed that this bioplastic will be used for packaging perishable products, as a result, the calculated annual need is 646.52 kg of polyhydroxybutyrate.

The currently available methods of isolation and purification of polyhydroxybutyrate were considered, due to the smallest loss of bioplastics and the high purity of the obtained product, the following post-fermentation isolation technology was chosen: separation of biomass by filtration, further extraction with chloroform and isolation of the obtained precipitate, filtrate concentration, precipitation of polyhydroxybutyrate with ethanol and drying.

Control methods are also selected: description, identification, loss on drying, assay. A continuous control map has been developed.

The qualification work is laid out on 85 pages, contains 8 chapters and 89 literary sources. Includes 13 tables, 3 figures, and also contains a graphic part (2 drawings of A1 and A2 format, respectively).

*Keywords:* *Synechocystis* sp. PCC 6714/MT\_a24, polyhydroxybutyrate, bioplastic, food packaging.

## РЕФЕРАТ

Тема кваліфікаційної роботи стосується розроблення технологічної та апаратурної схеми процесу виділення та очищення полігидроксibuтирату (ПГБ), який синтезується при культивуванні *Synechocystis* sp. PCC 6714/MT\_a24 в фотобіореакторі.

В роботі розглянуто перспективні сфери використання полігидроксibuтирату та визначено актуальну на сьогодні сферу використання, в якій даний продукт є найбільш затребуваним, а саме використання даного продукту для виробництва пакувальної тари. За обраним сферою використання було розраховано річну потребу біопластику, враховуючи його властивості по розкладанню для розрахунку приймали що даний біопластик використовуватимуть для пакування продуктів, що швидко псується, в результаті розрахована річна потреба, яка становить 646,52 кг полігидроксibuтирату.

Розглянуто наявні на сьогодні методики виділення та очищення полігидроксibuтирату, через найменші втрати біопластику та високу чистоту отриманого продукту, було обрано наступну технологію післяферментаційного виділення: виділення біомаси фільтруванням, подальша екстракція хлороформом та виділення отриманого осаду, концентрування фільтрату, осадження полігидроксibuтирату етанолом і сушіння.

Також підібрано методи контролю: опис, ідентифікація, втрата маси при висушуванні, кількісне визначення. Розроблено карту постадійного контролю.

Кваліфікаційна робота викладена на 85 сторінках, містить 8 розділів та 89 літературних джерел. Включає 13 таблиць, 3 рисунки, а також містить графічну частину (2 креслення формату А1 та А2 відповідно).

*Ключові слова:* *Synechocystis* sp. PCC 6714/MT\_a24, полігидроксibuтират, біопластик, пакування харчових продуктів.

## ЗМІСТ

|   |    |
|---|----|
| ВСТУП.....  | 8  |
| РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....   | 9  |
| 1.1. Дослідження фототрофних мікроорганізмів у біотехнологічних процесах закордонними вченими.....                                    | 9  |
| 1.1.1. Полігідроксibuтират (ПГБ).....   | 11 |
| 1.1.2. Глікоген.....  | 20 |
| 1.2. Обґрунтування вибору біологічного агента.....  | 22 |
| 1.3. Шляхи використання полігідроксibuтирату.....   | 29 |
| РОЗДІЛ 2. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБґРУНТУВАННЯ ВИРОБНИЦТВА ПОЛІГІДРОКСИБУТИРАТУ.....  | 37 |
| 2.1. Характеристика полігідроксibuтирату.....   | 37 |
| 2.2. Огляд ринку полігідроксibuтирату.....  | 39 |
| 2.3. Розрахунок річної потужності виробництва полігідроксibuтирату.....   | 41 |
| РОЗДІЛ 3. ОБґРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ПІСЛЯФЕРМЕНТАЦІЙНИХ ПРОЦЕСІВ ОТРИМАННЯ ПОЛІГІДРОКСИБУТИРАТУ.....                                       | 43 |
| 3.1. Виділення біомаси.....   | 43 |
| 3.2. Виділення полігідроксibuтирату.....  | 44 |
| 3.3. Концентрування.....  | 45 |
| 3.4. Осадження полігідроксibuтирату.....  | 46 |
| 3.5. Сушіння полігідроксibuтирату.....  | 46 |
| 3.6. Технологічні особливості отримання пакетів з полігідроксibuтирату.....   | 47 |
| РОЗДІЛ 4. ПІДБІР ТЕХНОЛОГІЧНОГО ОБЛАДНАННЯ З ВРАХУВАННЯМ МАТЕРІАЛЬНИХ ПОТОКІВ ПО СТАДІЯХ ТА МАТЕРІАЛЬНИЙ БАЛАНС НА ПАРТІЮ ПЛІВКИ..... | 52 |
| 4.1. Підбір технологічного обладнання.....  | 52 |
| 4.2. Матеріальний баланс на партію плівки з полігідроксibuтирату.....   | 55 |
| РОЗДІЛ 5. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ ДЛЯ ОТРИМАННЯ ПЛІВКИ З ПОЛІГІДРОКСИБУТИРАТУ.....  | 56 |
| РОЗДІЛ 6. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ПІСЛЯФЕРМЕНТАЦІЙНОГО ВИДІЛЕННЯ ТА ОЧИЩЕННЯ ПОЛІГІДРОКСИБУТИРАТУ ТА ВИРОБНИЦТВА ПЛІВКИ.....         | 58 |
| РОЗДІЛ 7. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА ПОЛІГІДРОКСИБУТИРАТУ.....  | 62 |
| 7.1. Методи контролю виробництва субстанції полігідроксibuтирату.....   | 62 |
| 7.2. Контроль виробництва біоупаковки на основі полігідроксibuтирату.....   | 63 |
| РОЗДІЛ 8. ПРОЄКТ ЗАЯВКИ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ. БІОУПАКОВКА НА ОСНОВІ ПОЛІГІДРОКСИБУТИРАТУ.....  | 68 |
| 8.1. Галузь і застосування корисної моделі.....   | 68 |

|  |           |
|--|-----------|
| 8.2. Відомі аналоги та їх основні недоліки .....             | 68        |
| 8.3. Постановка задачі корисної моделі та її вирішення ..... | 69        |
| 8.4. Опис запропонованого способу .....                      | 69        |
| 8.5. Формула корисної моделі .....                           | 70        |
| 8.6. Реферат.....  | 70        |
| <b>ВИСНОВКИ .....</b>  | <b>72</b> |
| <b>СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....</b>                   | <b>74</b> |

## ВСТУП

Постійне зростання чисельності населення та забруднення навколишнього середовища внаслідок численних антропогенних дій призвели до різноманітних зусиль для досягнення цілей сталого розвитку. Нині через зростаюче занепокоєння з приводу енергетичної кризи, продовольчої безпеки, та екологічних проблем, велику увагу до себе привернули фотосинтезуючі мікроорганізми, особливо ціанобактерії, які здатні акумулювати сонячну енергію в біомасу та корисні вуглецеві сполуки, які можуть вирішити перераховані проблеми, а саме полігидроксibuтират [1].

Полігидроксibuтират (ПГБ) характеризується високою здатністю до біологічного розкладання через що він вважається однією з кращих альтернатив пластмасам нафтохімічного виробництва. ПГБ має добрі термічні, механічні та біологічні властивості та має широкий спектр застосувань у пакувальній промисловості, сільському господарстві, медичних приладах та обладнанні [2], однак недоліком на сьогоднішній день є собівартість отриманого біополімера.

З огляду на вищенаведену інформацію на сьогодні є актуальними дослідження спрямовані на пошук нових ціанобактерій для синтезу полігидроксibuтирату або покращення вже існуючих технологічних процесів синтезу та виділення полігидроксibuтирату задля збільшення показників синтезу та зменшення втрат, відповідно, з метою зменшення собівартості отриманого кінцевого продукту.

|           |      |                |        |      |                          |             |      |         |
|-----------|------|----------------|--------|------|--------------------------|-------------|------|---------|
|           |      |                |        |      | НУХТ БТЕК 02.01.10 КР ПЗ |             |      |         |
| Змн.      | Лист | № докум.       | Підпис | Дата |                          |             |      |         |
| Розроб.   |      | Кравченко В.В. |        |      | Вступ                    | Літ.        | Арк. | Аркушів |
| Перевір.  |      | Пирог Т.П.     |        |      |                          |             | 8    | 1       |
| Реценз.   |      |                |        |      |                          | Кафедра БТМ |      |         |
| Н. Контр. |      |                |        |      |                          |             |      |         |
| Затверд.  |      | Стабніков В.П. |        |      |                          |             |      |         |

## РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

### 1.1. Дослідження фототрофних мікроорганізмів у біотехнологічних процесах закордонними вченими

На сьогоднішній день все більше зростає інтерес до дослідження фототрофних мікроорганізмів, через можливість перетворювати вуглекислий газ та синтезувати біологічно активні сполуки [3]. Вирощування даних біологічних агентів відбувається в фотобіореакторах, яких на сьогоднішній день велика кількість, але в основному існує два типи систем для вирощування ціанобактерій та мікроводоростей, а саме відкриті та закриті. Відкриті системи в свою чергу умовно поділяються на природні (озера, лагуни, ставки) та штучні (ставки або контейнери). Найбільш часто використовувані системи включають неглибокі великі ставки, резервуари, круглі ставки та скакові ставки [4]. Відкриті ставки набагато легше побудувати та експлуатувати, ніж більшість закритих систем. Однак основні обмеження у відкритих водоймах включають погане використання світла клітинами, втрату води через випаровування, дифузію CO<sub>2</sub> в атмосферу та потребу у великих площах землі. Всі зазначені обмеження призводять до нижчої продуктивності біомаси для відкритих систем порівняно з закритими системами, але враховуючи просту експлуатації та легке масштабування дані системи на сьогоднішній день все ще застосовуються в певних випадках, особливо коли необхідно отримати продукт з низькими вимогами чистоти [5, 6].

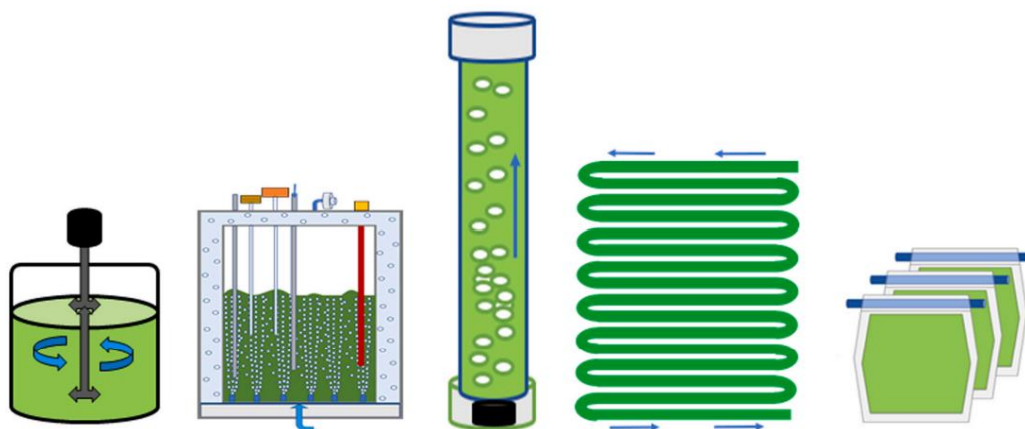
Закриті системи в свою чергу використовуються при виробництві високоцінних продуктів для застосування в фармацевтичній та косметичній промисловостях. До закритих систем відносять фотобіореактори, які не мають прямого обміну газами та забруднювачами з зовнішнього середовища.

|           |      |                |        |      |                            |      |         |
|-----------|------|----------------|--------|------|----------------------------|------|---------|
|           |      |                |        |      | НУХТ БТЕК 02.01.10 КР ПЗ   |      |         |
| Змн.      | Лист | № докум.       | Підпис | Дата |                            |      |         |
| Розроб.   |      | Кравченко В.В. |        |      | РОЗДІЛ 1. Огляд літератури |      |         |
| Перевір.  |      | Пирог Т.П.     |        |      |                            |      |         |
| Реценз.   |      |                |        |      | Літ.                       | Арк. | Аркушів |
| Н. Контр. |      |                |        |      |                            | 9    | 28      |
| Затверд.  |      | Стабніков В.П. |        |      | Кафедра БТМ                |      |         |

Необхідний газообмін здійснюється через стерилізований газовий фільтр, щоб уникнути забруднення всередині системи культури. Таким чином, закриті системи характеризуються мінімізацією забруднення в порівнянні з відкритими системами, але недоліком закритих систем є висока вартість обладнання. Фотобіореактори закритої системи мають кілька важливих переваг перед відкритими системами:

1. Мінімізація забруднення та можливість вирощувати монокультури.
2. Кращий контроль параметрів процесу, а саме: рівень рН, температура, світло, концентрація  $\text{CO}_2$  тощо.
3. Менші втрати  $\text{CO}_2$  та уникнення випаровування води.
4. Накопичення більшої концентрації клітин.
5. Можливість синтезу складних біофармацевтичних препаратів.

Нині існує кілька типів закритих систем, які застосовуються для вирощування ціанобактерій та мікроводоростей а саме: вертикальні (трубчасті) колони, фотобіореактори з плоскими пластинами та горизонтальні трубчасті фотобіореактори [5, 6]. Зображення фотобіореакторів для вирощування ціанобактерій та мікроводоростей наведено на рис. 1.1.



*Рис. 1.1.* Схематичне зображення типів фотобіореакторів які використовуються для вирощування ціанобактерій та мікроводоростей, зліва направо: резервуар з мішалкою, плоска панель, барботажна колона, трубчастого типу, пакети.

Розглянувши основні переваги та недоліки фотобіореакторів, можна дійти висновку що на сьогодні існує велика кількість різних типів та форм фотобіореакторів які дозволяють їх використовувати під необхідні кожному потреби. В нашому випадку для культивування ціанобактерій з метою синтезу вуглецевих метаболітів (глікоген та полігидроксибутират) доцільно використовувати закриті системи, які дозволять проводити детальне дослідження процесу та визначення оптимальних параметрів процесу [6].

Ціанобактерії це фотосинтезуючі бактерії які з'явились на Землі дуже давно, що дозволило їм адаптуватись до жорстких умов навколишнього середовища та виробляти низку запасних сполук, включаючи глікоген та полігидроксибутират, які дозволяють їм виживати при змінні умов середовища [7]. Під час надлишку світла та вуглекислого газу глікоген синтезується з надлишком метаболічної енергії, особливо коли ріст обмежений іншими сполуками, такими як азот або фосфор [8, 9], в подальшому синтезований глікоген окиснюється протягом темного періоду як джерело енергії через окислювальний пентозофосфатний шлях [10]. Подібно до глікогену, для синтезу полігидроксибутирату, ціанобактерії також використовують надлишок внутрішньоклітинного вуглецю (у формі ацетил-КоА) та відновних еквівалентів (НАДН) для свого синтезу. Розглянемо більш детально біотехнологічні особливості синтезу даних речовин.

### **1.1.1. Полігидроксибутират (ПГБ)**

При вирощуванні ціанобактерій одним із продуктів метаболізму є полігидроксибутират, який в останні десятиліття набув великого інтересу через свої властивості [11]. Полігидроксибутират це полімер отриманий в результаті накопичення вуглецю в клітинах певних видів бактерій, даний полімер в порівнянні з синтетичним має ряд переваг, по-перше в порівнянні з поліетиленом та поліпропіленом, полігидроксибутират має вищу бар'єрну проникність, по-друге полігидроксибутират в порівнянні з усіма іншими синтетичними полімерами, проявляє здатність до біологічного розкладання в

результаті контакту з мікроорганізмами які знаходяться в звичних середовищах (грунт, прісна вода, аеробне та анаеробне компостування) [12].

На сьогоднішній день вчені досліджують шляхи підвищення концентрації синтезованого полігидроксибутирату. Розглянемо більш детально основні методи покращення кінцевого виходу полігидроксибутирату, узагальнені дані наведено в табл. 1.1.

В 2015 році вчені проводили генну модифікацію ціанобактерій *Synechocystis* sp. PCC 6803 для надсинтезу полігидроксибутирату [13]. Для конструювання генно-модифікованого штаму в *Synechocystis* sp. PCC 6803 експресували гени *pha*, які відповідали за синтез полігидроксибутирату. В результаті сконструйований штам *Synechocystis* sp. PCC 6803GT\_ABEC вирощували впродовж 30 діб на середовищі BG 11 при освітленні 100 мкмоль  $\text{m}^{-2}\text{c}^{-1}$ , 30 °C, швидкості перемішування 50 об/хв та внесенні 2%  $\text{CO}_2$ . В результаті культивування кількість накопиченого ПГБ становив 7 % сухої біомаси.

*Zhang* з співавторами вивчали вплив метаболічної інженерії *Synechococcus* sp. PCC 7002 на синтез полігидроксибутирату [14]. Для конструювання модифікованого штаму в *Synechococcus* sp. PCC 7002 експресували гени які відповідають за синтез полігидроксибутирату у *Chlorogloeopsis fritschii* PCC 9212. Вирощування модифікованого штаму відбувалось на середовищі  $\text{A}^+$  при 38 °C, та середній інтенсивності освітлення 250 мкмоль  $\text{m}^{-2}\text{c}^{-1}$  з внесенням 1 %  $\text{CO}_2$ . В результаті вирощування рівень накопичення полігидроксибутирату становив 3,97 % від сухої біомаси.

*Kavitha* з співавторами вивчали синтез полігидроксибутирату при вирощуванні *Arthrospira platensis* RRGK в відкритих водоймах [15]. Вирощування проводили в відкритому ставку об'ємом 2  $\text{m}^3$ , в якості середовища використовували середовище Zarrouk з додатковим внесенням 60 мМ гідрокарбонату натрію при рН 9,5 та 40 °C. В результаті культивування даний штам накопичував 131 мг/л полігидроксибутирату та 2,2 г/л біомаси.

*Ansari* з співавтором досліджували синтез полігидроксибутирату за допомогою ціанобактерій [16]. В ході досліду було розглянуто декілька представників ціанобактерій, серед яких найкращим продуцентом полігидроксибутирату був *Nostoc muscorum* NCCU-442. В подальшому дані вчені провели оптимізації умов культивування, та було встановлено що при вирощуванні *Nostoc muscorum* NCCU-442 при рН 7,5 температурі 30 °С з дотриманням світлового режиму 10:14 (світло-темрява) та додатковим внесенням 0,4 % глюкози та 1 г/л хлориду натрію, кількість синтезованого полігидроксибутирату становить 26,37 % сухої біомаси на 7 день вирощування. Процес вирощування проводили в колбах Ерленмейєра на середовищі BG 11, з середньою інтенсивністю світла 25 мкмоль м<sup>-2</sup> с<sup>-1</sup>.

*Khetkorn* з співавторами оцінювали вплив надекспресії генів відповідальних за синтез полігидроксибутирату в *Synechocystis* sp. PCC6803 [17]. Модифікований штам конструювали шляхом надекспресії нативних генів *Synechocystis* sp. PCC6803 *phaA* і *phaB*. Вирощування проводили на поживному середовищі BG11 без азоту, з додатковим внесення 0,4 % ацетату, впродовж 9 діб при 30 °С, 160 об/хв, та середній інтенсивності освітлення 40 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>. По закінченню вирощування накопичення полігидроксибутирату становило 35 % від сухої біомаси.

*Carpine* з співавторами досліджували генетичну модифікацію *Synechocystis* sp. PCC6803 для посиленого виробництва полігидроксибутирату [18]. Сконструйований штам *Synechocystis* WD119 (DKOX) передбачав надекспресію *xfpk* та делецію *pta* та *ach* в *Synechocystis* sp. PCC6803. Вирощування модифікованого штаму проводили в фотобіореакторі (похила колона) на середовищі BG11 з світловим режимом 18:6 (світло-темрява), середньою інтенсивністю освітлення 260 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>, аерацією повітрям з 2 % CO<sub>2</sub>, при 28 °С впродовж 40 діб. В результаті сконструйований штам накопичував полігидроксибутират у кількості 12 % від сухої біомаси.

*Kamravamanesh* з співавторами оцінювали спроможність синтезу полігидроксибутирату ціанобактеріями *Synechocystis* sp. PCC 6714 [19]. В

результаті вирощування штаму *Synechocystis* sp. PCC 6714 на середовищі BG11 без азоту та фосфору при 28 °C, рН 8,5, 300 об/хв та внесенні повітря з 2 % CO<sub>2</sub> з середньою інтенсивністю освітлення 40 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup> на 14 день вирощування накопичення полігидроксибутирату становило 16,4 % від сухої біомаси.

В 2018 році вчені досліджували пілотне виробництво полігидроксибутирату в трубчастому фотобіореакторі при культивуванні *Synechocystis* sp. CCALA192 [20]. Експерименти проводили в трубчастому фотобіореакторі об'ємом 200 л впродовж 75 діб, вирощування культури відбувалось на середовищі BG11 з внесенням бікарбонату натрію та карбонату натрію, процес синтезу ПГБ проводили поетапно, впродовж 75 діб було проведено 4 етапи, один етап вирощування характеризується поступовим накопиченням біомаси з споживанням усього азоту та зміною забарвлення середовища та починаючи з 6 доби подальшим накопиченням полігидроксибутирату. В результаті 4 етапів синтезу ПГБ середнє значення накопичення полігидроксибутирату становило 12,5 % від сухої біомаси, а середній вміст глікогену 20,4 % від сухої біомаси, під час вирощування відбувалось внесення вуглекислого газу середнє споживання якого становило 2 г/л.

*Kamravamanesh* з співавторами оцінювали вплив випадкового мутагенезу *Synechocystis* sp. PCC 6714 на синтез полігидроксибутирату [21]. Для отримання мутантного штаму клітини витримували під ультрафіолетовим випромінюванням. Процес синтезу полігидроксибутирату проводили в дві стадії, перша стадія відбувалась на поживному середовищі BG11 впродовж 135 год, а друга на поживному середовищі BG11 без азоту та фосфору з 135 год до 450 год. Вирощування проводили при 28 °C та інтенсивності освітлення 50 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>, стадію синтезу (друга фаза) проводили при 300 об/хв, рН 8,5 з внесення повітря з вмістом 2 % CO<sub>2</sub> та інтенсивністю освітлення 60 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>. В результаті мутантний штам МТ\_а24 накопичував полігидроксибутират у кількості 37 % від сухої біомаси, а максимальна

концентрація глікогену спостерігалась на 200 год та становила 50 % від сухої біомаси.

*Da Silva* з співавторами оцінювали вплив відходів отриманих після екстракції біополімерів на синтез полігидроксибутирату при вирощуванні *Spirulina* sp. LEB 18 [22]. Під час дослідів *Spirulina* sp. LEB 18 вирощували в вертикальному трубчастому реакторі на середовищі Zargouk з додатковим внесенням відходів після екстракції біополімерів, з світловим режимом 12:12 (світло-темрява), при 30 °C, впродовж 20 діб. В результаті експериментів найкращі показники синтезу полігидроксибутирату (10,6 % від сухої біомаси) були продемонстровані при внесенні 25 % відходів в поживне середовище.

*Arisaka* з співавторами досліджували вплив надекспесії гена *ntcA* у *Synechocystis* sp. PCC 6803 на синтез полігидроксибутирату [23]. В ході дослідів було визначено що ген *ntcA* приймає участь у перерозподілі внутрішньоклітинних джерел вуглецю для синтезу полігидроксибутирату. Модифікований штам вирощували в два етапи спочатку на середовищі BG11 впродовж 7 діб, а в подальшому на середовищі BG11 без хлориду амонію, умови вирощування однакові для двох етапів, а саме: 30 °C, постійне освітлення, інтенсивність освітлення 60 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>, аерація повітрям з вмістом 1 % CO<sub>2</sub>. В результаті вирощування найвищий показник синтезованого полігидроксибутирату (5,4 % від сухої біомаси) спостерігався на 7 день азотного голодування, що становило 14 день загального культивування (спочатку 7 діб вирощування на середовищі з усіма компонентами, а в подальшому 7 діб азотного голодування).

*Singh* з співавторами досліджували вплив параметрів культивування *Scytonema geitleri* Bharadwaja на синтез полігидроксибутирату [24]. Процес культивування проводили в колбах Ерленмейєра, з дотриманням режиму світло-темрява 14:10, та середньою інтенсивністю світла 95 мкмоль м<sup>-2</sup> с<sup>-1</sup> впродовж 28 діб. Під час визначення впливу параметрів на синтез полігидроксибутирату, розглядали рівень рН, температуру, та джерело вуглецю, в результаті найвищий синтез полігидроксибутирату (7,12 % сухої

біомаси) спостерігався при рН 8,5, температурі 30 °С та внесенні 30 мМ ацетату.

*Carpine* з співавторами проводили дослідження спрямоване на визначення впливу азоту на синтез полігидроксибутирату при культивуванні ціанобактерій [25]. В ході дослідів було встановлено що найкращим продуцентом полігидроксибутирату є *Synechocystis* PCC6803, який накопичував найбільшу кількість ПГБ в порівнянні з іншими розглянутими представниками. В результаті порівняння впливу азоту на синтез полігидроксибутирату було визначено що найвищий синтез (8% сухої біомаси) відбувається при вирощуванні культури на середовищі BG11 з зменшеною вдвічі концентрацією нітрату натрію. Експерименти проводили в барботажній колоні об'ємом 800 мл, з дотриманням світлового режиму 16:8 (світло-темрява), з освітленням 150 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup> при 25 °С та внесенні повітря з 2 % CO<sub>2</sub>.

В 2020 році проводили метаболічну інженерію *Synechocystis* sp . PCC 6803, для надсинтезу полігидроксибутирату [26]. Для конструювання штаму проводили делецію регуляторного білка PirC, та експресували два гени *phaA* та *phaB* відподальних за синтез ПГБ у *Cupriavidus necator*. Сконструйований штам *Synechocystis* PPT1 вирощували при 125 об/хв, 28 °С на середовищі з BG11 без нітрату натрію та калію гідроортофосфату з додатковим внесенням 10 мМ ацетату, рівень освітлення 50 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>, світловий режим 12:12 (світло-темрява). При вирощуванні на безазотно-фосфорному середовищі рівень накопичення ПГБ становив 63% сухої біомаси, а при додатковому внесенні ацетату кількість ПГБ збільшувалась до 81 % сухої біомаси.

В 2021 році вчені вивчали генну модифікацію ціанобактерій для промислового виробництва полі-β-гідроксибутирату [27]. В процесі дослідів для конструювання генно-модифікованого штаму в *Synechococcus elongatus* UTEX 2973 вводили гени *phaCAB* від *Cupriavidus necator* H16. Отриманий штам вирощували при 38 °С, на середовищі BG11, з ступенем освітлення 200 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>, рН 8,0, та аерацією повітрям з 5 % CO<sub>2</sub>. В результаті

культивування на 9 добу спостерігалась найвища концентрація синтезованого полігидроксибутирату 420 мг/л що відповідало 16,7 % від сухої біомаси.

*Rueda* з співавтором в 2021 році проводили оптимізацію процесу синтезу полігидроксибутирату фототрофними ціанобактеріями шляхом моделювання кінетичної моделі [28]. На основі інформації що одним із важливих факторів синтезу великої кількості полігидроксибутирату є обмеження кількості поживних речовин вчені провели оптимізацію безперервного виробництва та прийшли до висновку що для виробництва ПГБ необхідно використовувати реактори у серії, тобто в одному реакторі відбувається вирощування ціанобактерій та споживання поживних речовин, а в подальшому з цього реактора по досягненню певних параметрів середовище направляють в другий реактор де відбувається накопичення глікогену та полігидроксибутирату. Схематичне зображення наведено на рис. 1.2.

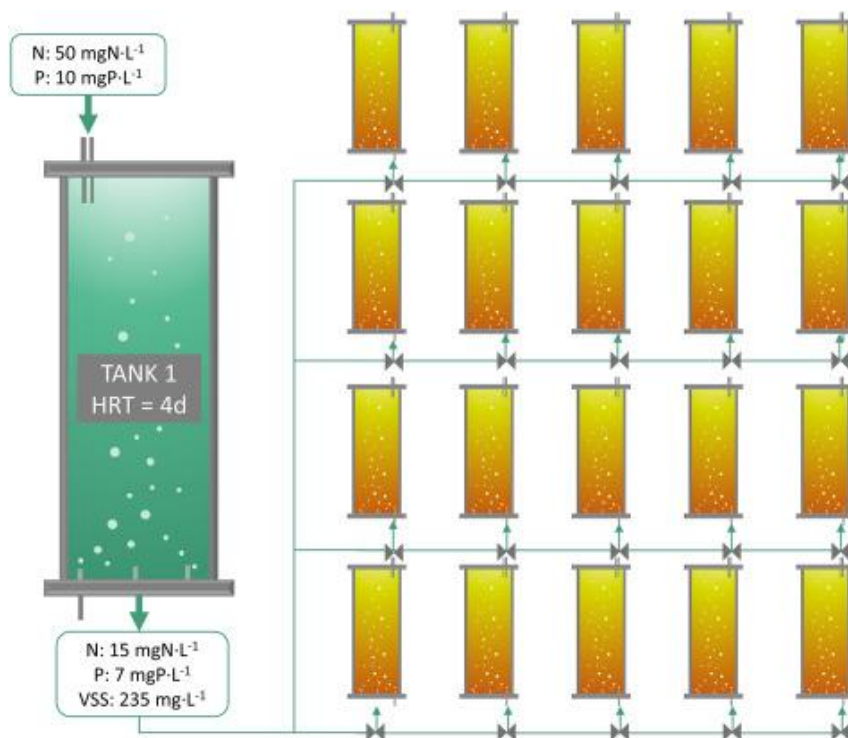


Рис. 1.2. Схематичне зображення безперервного процесу виробництва полігидроксибутирату

В подальшому даними вченими було проведено оптимізацію процесу безперервного синтезу полігидроксибутирату, та визначено що оптимальним показником утримання клітин в реакторі вирощування становить 4 доби з

необхідним початковим вмістом азоту 50 мг/л та фосфору 10 мг/л, а в реакторах накопичування полігидроксибутирату час утримання становить 20 діб. В результаті досягається синтез полігидроксибутирату у кількості 9 % від сухої біомаси та з продуктивністю 5 мл/л×добу. Всі досліди проводили з *Synechocystis* sp. культивування проводили при освітленні 102 мкмоль м<sup>-2</sup> с<sup>-1</sup> протягом 15 годин на добу.

*González-Resendiz* з співавторами досліджували синтез полігидроксибутирату при вирощуванні ціанобактерій виділених з невеликого ставка в посушливому регіоні з середньою температурою 39 °С, Мексика [29]. Ізольовану культуру ідентифікували як *Synechococcus elongatus* UAM–C/S03 вирощування проводили на середовищі BG11 без азоту впродовж 9 діб при 35 °С, та середній інтенсивності освітлення 100 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>, з внесенням 250 мг/л\*д СО<sub>2</sub>. В результаті вирощування накопичення полігидроксибутирату становило 29,42 % від сухої біомаси.

Вчені в 2023 році оцінювали вплив надмірної експресії генів *RuBisCO* в *Synechocystis* sp. PCC 6803 на синтез біомаси та виробництво полігидроксибутирату [30]. *Synechocystis* OX *rbcLXS* з надекспресією гена *RuBisCO* вирощували в два етапи спочатку впродовж 7 діб на поживному середовищі BG11 з додатковим внесенням 20 мМ бікарбонату натрію та в подальшому 7 діб на середовищі BG11 з вилученим азотом та фосфором. Культивування проводили при 30 °С, з постійним освітленням інтенсивністю освітлення 50 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>. В результаті на 7 день вирощування на середовищі без азоту та фосфору модифікований штам накопичував 39 % від сухої біомаси полігидроксибутирату та 31,9% від сухої біомаси глікогену.

## Узагальнена характеристика продуцентів полігидроксибутирату

| Продуцент   | Світловий режим (світло-темрява) / рівень освітленості | Час вирощування, діб | Концентрація полігидроксибутирату, від сухої біомаси | Посилання |
|---|--|----------------------|--|-----------|
| <i>Synechococcus elongatus</i> UTEX 2973- <i>phaCAB</i> | - /<br>200 мкмоль м <sup>-2</sup> с <sup>-1</sup>      | 9                    | 16 %<br>(420 мг/л)                                   | 25        |
| <i>Scytonema geitleri</i><br><i>Bharadwaja</i>          | 14:10 /<br>95 мкмоль м <sup>-2</sup> с <sup>-1</sup>   | 28                   | 7,12 %   | 22        |
| <i>Nostoc muscorum</i><br>NCCU-442                      | 10:14 /<br>25 мкмоль м <sup>-2</sup> с <sup>-1</sup>   | 7                    | 26,37 %  | 14        |
| <i>Synechocystis</i> sp.                                | 15:9 /<br>102 мкмоль м <sup>-2</sup> с <sup>-1</sup>   | 4 + 20               | 9 %  | 26        |
| <i>Synechocystis</i> sp.<br>PCC 6803GT_ABEC             | - /<br>100 мкмоль м <sup>-2</sup> с <sup>-1</sup>      | 30                   | 7 %  | 11        |
| <i>Synechocystis</i> PPT1                               | 12:12 /<br>50 мкмоль м <sup>-2</sup> с <sup>-1</sup>   | 21                   | 81 %   | 24        |
| <i>Synechocystis</i> sp.<br>PCC 6714                    | - /<br>40 мкмоль м <sup>-2</sup> с <sup>-1</sup>       | 14                   | 16,4%  | 17        |
| <i>Synechocystis</i> sp.<br>CCALA192                    |  | 75                   | 12,5 %   | 18        |
| <i>Synechocystis</i><br>PCC6803                         | 16:8 /<br>150 мкмоль м <sup>-2</sup> с <sup>-1</sup>   | 26                   | 8 %  | 23        |
| <i>Synechococcus</i> sp.<br>PCC 7002                    | - /<br>250 мкмоль м <sup>-2</sup> с <sup>-1</sup>      | 8                    | 3,97 %   | 12        |
| <i>Synechococcus elongatus</i> UAM-C/S03                | - /<br>100 мкмоль м <sup>-2</sup> с <sup>-1</sup>      | 9                    | 29,42 %  | 27        |
| <i>Synechocystis</i> sp.<br>PCC6803<br><i>phaA/phaB</i> | - /<br>40 мкмоль м <sup>-2</sup> с <sup>-1</sup>       | 9                    | 35 %   | 15        |
| <i>Synechocystis</i><br>WD119 (DKOX)                    | 18:6 /<br>260 мкмоль м <sup>-2</sup> с <sup>-1</sup>   | 40                   | 12 %   | 16        |
| <i>Synechocystis</i> sp.<br>PCC 6714/MT_a24             | - /<br>50-60 мкмоль м <sup>-2</sup> с <sup>-1</sup>    | 450 год              | 37 %   | 19        |
| <i>Synechocystis</i> OX<br><i>rbcLXS</i>                | 24:0 /<br>50 мкмоль м <sup>-2</sup> с <sup>-1</sup>    | 14                   | 39 %   | 28        |
| <i>Synechocystis</i> sp.<br>PCC 6803/ <i>ntcA</i>       | 24:0 /<br>60 мкмоль м <sup>-2</sup> с <sup>-1</sup>    | 14                   | 5,4 %  | 21        |
| <i>Spirulina</i> sp. LEB 18                             | 12:12 /<br>-   | 20                   | 10,6 %   | 20        |
| <i>Arthrospira platensis</i> RRGK                       | -  | 9                    | 131 мг/л   | 13        |
| <i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803                       | - /<br>50 мкмоль м <sup>-2</sup> с <sup>-1</sup>       | 35                   | 5,1 %<br>(72 мг/л)                                   | 33        |
| <i>Nostoc muscorum</i>                                  | 12:12 /<br>275 мкмоль м <sup>-2</sup> с <sup>-1</sup>  | 6                    | 1,4 %  | 34        |

### 1.1.2. Глікоген

Ціанобактерії здатні накопичувати глікоген в великих кількостях, який на сьогодні є перспективною сировиною для виробництва біопалива, а також який в процесі життєдіяльності може використовуватись самими ціанобактеріями для синтезу полігідроксибутирату [31]. Розглянемо біотехнологічні особливості синтезу глікогену за допомогою ціанобактерій, узагальнена інформація наведена в табл. 1.2.

Вчені в 2013 році досліджували вплив різних джерел азоту та фосфору на ріст *Synechocystis* sp. PCC 6803 та *Anabaena* sp. PCC 7120 та їх синтез глікогену [32]. В результаті дослідів було встановлено що найкращим джерелом азоту для синтезу глікогену у *Synechocystis* sp. PCC 6803 є  $\text{NaNO}_2$ , а для *Anabaena* sp. PCC 7120 – сечовина, а найкращим джерелом фосфору для *Synechocystis* sp. PCC 6803 та *Anabaena* sp. PCC 7120 є аденозинтрифосфат. Культивування проводили на середовищі BG11, рН 8,0, при 30 °С, 150 об/хв та інтенсивністю освітлення 50 мкмоль  $\text{м}^{-2}\text{с}^{-1}$ .

*Aikawa* з співавторами досліджували можливість вирощування морських ціанобактерій *Synechococcus* sp. PCC 7002 з метою синтезу глікогену [33]. Під час дослідів було визначено оптимальні умови процесу культивування, а саме: інтенсивність освітлення 600 мкмоль  $\text{м}^{-2}\text{с}^{-1}$ , аерація повітрям з 2 %  $\text{CO}_2$ , середовище А з водою з вмістом хлориду натрію 2,7 % та внесенням нітратів у концентрації 15 мМ, 33 °С, 80 об/хв. В результаті культивування за оптимальних умов *Synechococcus* sp. PCC 7002 синтезував 3,5 г/л глікогену на 7 день культивування, що становило 49,8 % від сухої біомаси.

*Comer* з співавторами досліджували генну модифікацію *Synechococcus* sp. PCC 7002 з метою надсинтезу глікогену [34]. Для конструювання модифікованого штаму у *Synechococcus* sp. PCC 7002 видаляли гени *glpP* та *agrA*, які відповідають за розщеплення глікогену. Отриманий штам *Synechococcus* sp. PCC 7002 $\Delta$ *glpP* $\Delta$ *agrA* вирощували при 27 °С, 150 об/хв, аерацією повітрям з 1 %  $\text{CO}_2$ , та інтенсивністю освітлення 200 мкмоль  $\text{м}^{-2}\text{с}^{-1}$ ,

на середовищі А. В результаті культивування впродовж 8 діб модифікований штам накопичував 3,6 г/л глікогену що приблизно становило 75 % від сухої біомаси.

*Singhon* з співавторами оцінювали кількісний вплив джерела азоту та фосфору на синтез глікогену та полігидроксибутирату при культивуванні *Synechocystis* sp. PCC 6803 [35]. В процесі експериментів культуру вирощували на середовищі BG11, з різною концентрацією нітрату натрію та гідроортофосфату калію, при 30 °С, 160 об/хв та інтенсивністю освітлення 50 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>. В результаті було встановлено що при 100 % нітрату натрію та 20 % гідроортофосфату натрію (від вихідної кількості) синтез глікогену та полігидроксибутирату є найкращим, на 35 добу культивування при зазначених умовах концентрація синтезованого глікогену становила 618 мг/л (43,8 % від сухої біомаси), а полігидроксибутирату – 72 мг/л (5,1 % від сухої біомаси).

В 2021 році вчені оцінювали вплив концентрації вуглекислого газу на синтез глікогену при культивуванні *Nostoc muscorum* [36]. Під час експериментів культивування проводили на ES середовищі, з світловим режимом 12:12 (світло-темрява), інтенсивністю освітлення 275 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>, при 25 °С, 300 об/хв та вносили різну концентрацію вуглекислого газу від 0,03 % до 30 %. В результаті оптимальним значенням концентрації вуглекислого газу є 10 %, а також при додатковому внесенні в поживне середовище валеріанової кислоти концентрація синтезованого глікогену становить 58,5 % від сухої біомаси, а концентрація полігидроксибутирату 1,4 % від сухої біомаси.

## Узагальнена характеристика продуцентів глікогену

| Продуцент  | Світловий режим (світло-темрява) / рівень освітленості | Час вирощування, діб | Концентрація глікогену | Посилання |
|--|--|----------------------|------------------------|-----------|
| <i>Synechocystis</i> sp. CCALA192  |  | 75                   | 20,4 %                 | 18        |
| <i>Synechocystis</i> sp. PCC 6714/MT_a24   | – / 50-60 мкмоль м <sup>-2</sup> с <sup>-1</sup>       | 200 год              | 50 %                   | 19        |
| <i>Synechocystis</i> OX <i>rbcLXS</i>  | 24:0 / 50 мкмоль м <sup>-2</sup> с <sup>-1</sup>       | 14                   | 31,9 %                 | 28        |
| <i>Synechococcus</i> sp. PCC 7002  | – / 600 мкмоль м <sup>-2</sup> с <sup>-1</sup>         | 7                    | 49,8 % (3,5 г/л)       | 31        |
| <i>Synechococcus</i> sp. PCC 7002 $\Delta$ <i>glpP<math>\Delta</math><i>agpA</i></i> | – / 200 мкмоль м <sup>-2</sup> с <sup>-1</sup>         | 8                    | 75 % (3,6 г/л)         | 32        |
| <i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803  | – / 50 мкмоль м <sup>-2</sup> с <sup>-1</sup>          | 35                   | 43,8 % (618 мг/л)      | 33        |
| <i>Nostoc muscorum</i>   | 12:12 / 275 мкмоль м <sup>-2</sup> с <sup>-1</sup>     | 6                    | 58,5 %                 | 34        |

## 1.2. Обґрунтування вибору біологічного агента

Розглянувши біотехнологічні особливості виробництва полігидроксибутирату при вирощуванні ціанобактерій, проведемо вибір оптимального біологічного агента для промислового виробництва даного біополімера. Порівняльна характеристика продуцентів полігидроксибутирату наведена в табл. 1.3.

*Synechococcus elongatus* UAM–C/S03 характеризується найменшим часом культивування (216 год) в порівнянні з розглянутими представниками, а також найменшою концентрацією синтезованої біомаси (1,07 г/л), з 29,42 % накопиченого полігидроксибутирату [29].

*Synechocystis* sp. PCC 6714/MT\_a24 синтезує найбільшу кількість біомаси 3,6 г/л, з найбільшим рівнем накопичення полігидроксибутирату 37%, з майже вдвічі більшим часом витрачений на культивування (450 год ) в порівнянні з *S. elongatus* UAM–C/S03 [21].

*Synechocystis* WD119 (DKOX) синтезує в порівнянні з *S. elongatus* UAM–C/S03 значно більшу кількість біомаси (2,42 г/л), але рівень накопичення

полігидроксибутирату значно менший (12 %), а час культивування найбільший (960 год) [18].

Враховуючи що у розглянутих представників різний час культивування, різна концентрація полігидроксибутирату та різний склад поживного середовища, для подальшого визначення оптимального продуцента для початку необхідно визначити вартість поживного середовища, дані наведено в табл. 1.4.

## Обґрунтування вибору біологічного агента

| Продуцент                                 | Склад поживного середовища, г/л  | Концентрація біомаси, г/л | Накопичення полігідроксибутирату, від сухої біомаси | Час культивування, год | Особливості процесу біосинтезу  | Література |
|---|--|---------------------------|---|------------------------|---|------------|
| <i>Synechococcus elongatus</i> UAM-C/S03  | Вирощування на середовищі BG11* з подвійною концентрацією компонентів без азоту  | 1,07                      | 29,42 %   | 216                    | 100 мкмоль м <sup>-2</sup> с <sup>-1</sup><br>аерація повітрям з 2 % CO <sub>2</sub><br>35 °С   | 1          |
| <i>Synechocystis</i> sp. PCC 6714/MT_a2 4 | Вирощування на середовищі BG11* (перший етап), середовище BG-11* без нітрату та амонію та заміною K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> на KCl, цитрату заліза амонію на цитрат заліза та Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O на CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O | 3,6                       | 37 %  | 450                    | Вирощування в два етапи: Перший етап вирощування на середовищі для синтезу біомаси (135 год), другий етап вирощування на середовищі без азоту та фосфору для синтезу біополімеру (135-450);<br>60 мкмоль м <sup>-2</sup> с <sup>-1</sup><br>аерація повітрям з 2 % CO <sub>2</sub><br>28 °С<br>рН 8,5 | 2          |
| <i>Synechocystis</i> WD119 (DKOX)         | Вирощування на середовищі BG11*  | 2,42                      | 12 %  | 960                    | 18:6 (світло-темрява),<br>260 мкмоль м <sup>-2</sup> с <sup>-1</sup><br>аерація повітрям з 2 % CO <sub>2</sub><br>28 °С   | 3          |

Примітка: \* Компонентний склад середовища BG11: NaNO<sub>3</sub> – 1,5; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-0,04; MgSO<sub>4</sub> – 0,075; CaCl<sub>2</sub> – 0,036; Лимонна кислота – 0,006; Цитрат заліза амонію – 0,006; Динатрій магнію ЕДТА – 0,001; Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> – 0,02; Розчин мікроелементів – 1 мл. Розчин мікроелементів, г/л: H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> – 2,86; MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O – 1,81; ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O – 0,222; Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O – 0,390; CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O – 0,079; Co(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O – 0,0494.

**Вартість поживного середовища для культивування *Synechococcus elongatus* UAM–C/S03, *Synechocystis* sp. PCC 6714/MT\_a24 та *Synechocystis* WD119 (DKOX)**

| Продуцент                                      | Компонент поживного середовища, г/л                              | Ціна компонента, грн/кг | Вартість компонента (грн) на 1л середовища | Джерело інформації (1-17)* |
|--|--|-------------------------|--|----------------------------|
| <i>Synechocystis</i><br>sp. PCC<br>6714/MT_a24 | Перший етап:   |                         |  |                            |
|  | NaNO <sub>3</sub> – 1,5  | 58                      | 0,087                                      | 1                          |
|  | K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> –0,04                            | 150                     | 0,006                                      | 2                          |
|  | MgSO <sub>4</sub> – 0,075  | 50                      | 0,00375                                    | 3                          |
|  | CaCl <sub>2</sub> – 0,036  | 57                      | 0,00205                                    | 4                          |
|  | Лимонна кислота – 0,006  | 57                      | 0,00034                                    | 5                          |
|  | Цитрат заліза амонію – 0,006                                     | 4 229                   | 0,02537                                    | 6                          |
|  | Динатрій магнію ЕДТА – 0,001                                     | 23 360                  | 0,02336                                    | 7                          |
|  | Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> – 0,02                           | 73                      | 0,00146                                    | 8                          |
|  | Розчин мікроелементів – 1 мл                                     | 1,75                    | 0,00175                                    |                            |
|  | Вартість 1 л розчину мікроелементів – 1,74986 грн ≈ 1,75 грн     |                         |  |                            |
|  | H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> – 2,86                            | 72                      | 0,20592                                    | 9                          |
|  | MnCl <sub>2</sub> ×4H <sub>2</sub> O – 1,81                      | 206                     | 0,37286                                    | 10                         |
|  | ZnSO <sub>4</sub> ×7H <sub>2</sub> O – 0,222                     | 57                      | 0,01265                                    | 11                         |
|  | Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ×2H <sub>2</sub> O – 0,390      | 2 390                   | 0,9321                                     | 12                         |
|  | CuSO <sub>4</sub> ×5H <sub>2</sub> O – 0,079                     | 158                     | 0,01248                                    | 13                         |
|  | Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ×6H <sub>2</sub> O – 0,0494    | 4 329                   | 0,21385                                    | 14                         |
|  | Другий етап:   |                         |  |                            |
|  | KCl – 0,04   | 145                     | 0,0058                                     | 15                         |
|  | MgSO <sub>4</sub> – 0,075  | 50                      | 0,00375                                    | 3                          |
|  | CaCl <sub>2</sub> – 0,036  | 57                      | 0,00205                                    | 4                          |
|  | Лимонна кислота – 0,006  | 57                      | 0,00034                                    | 5                          |
|  | Цитрат заліза – 0,006  | 40                      | 0,00024                                    | 16                         |
|  | Динатрій магнію ЕДТА – 0,001                                     | 23 360                  | 0,02336                                    | 7                          |
|  | Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> – 0,02                           | 73                      | 0,00146                                    | 8                          |
|  | Розчин мікроелементів – 1 мл                                     | 1,64                    | 0,00164                                    |                            |
|  | Вартість 1 л розчину мікроелементів – 1,63323 грн/л ≈ 1,64 грн/л |                         |  |                            |
|  | H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> – 2,86                            | 72                      | 0,20592                                    | 9                          |
|  | MnCl <sub>2</sub> ×4H <sub>2</sub> O – 1,81                      | 206                     | 0,37286                                    | 10                         |
|  | ZnSO <sub>4</sub> ×7H <sub>2</sub> O – 0,222                     | 57                      | 0,01265                                    | 11                         |
|  | Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ×2H <sub>2</sub> O – 0,390      | 2 390                   | 0,9321                                     | 12                         |
|  | CuSO <sub>4</sub> ×5H <sub>2</sub> O – 0,079                     | 158                     | 0,01248                                    | 13                         |
|  | CoCl <sub>2</sub> ×6H <sub>2</sub> O – 0,0494                    | 1 968                   | 0,09722                                    | 17                         |
| Вартість 1 л середовища ≈ 0,072 грн            |  |                         |  |                            |

| Продуцент   | Компонент поживного середовища, г/л                              | Ціна компонента, грн/кг | Вартість компонента (грн) на 1л середовища | Джерело інформації (1-17)* |
|---|--|-------------------------|--|----------------------------|
| <i>Synechococcus elongatus</i> UAM-C/S03                      | K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> -0,08                            | 150                     | 0,012                                      | 2                          |
|   | MgSO <sub>4</sub> – 0,15   | 50                      | 0,0075                                     | 3                          |
|   | CaCl <sub>2</sub> – 0,072  | 57                      | 0,004104                                   | 4                          |
|   | Лимонна кислота – 0,012  | 57                      | 0,000684                                   | 5                          |
|   | Динатрій магнію ЕДТА – 0,002                                     | 23 360                  | 0,04672                                    | 7                          |
|   | Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> – 0,04                           | 73                      | 0,00292                                    | 8                          |
|   | Розчин мікроелементів – 2 мл                                     | 3,5                     | 0,007                                      |                            |
|   | Вартість 1 л розчину мікроелементів – 3,5 грн/л                  |                         |  |                            |
|   | H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> – 5,72                            | 72                      | 0,41184                                    | 9                          |
|   | MnCl <sub>2</sub> ×4H <sub>2</sub> O – 3,62                      | 206                     | 0,74572                                    | 10                         |
|   | ZnSO <sub>4</sub> ×7H <sub>2</sub> O – 0,444                     | 57                      | 0,02531                                    | 11                         |
|   | Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ×2H <sub>2</sub> O – 0,78       | 2 390                   | 1,8642                                     | 12                         |
|   | CuSO <sub>4</sub> ×5H <sub>2</sub> O – 0,158                     | 158                     | 0,024964                                   | 13                         |
|   | Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ×6H <sub>2</sub> O – 0,0988    | 4 329                   | 0,427705                                   | 14                         |
|   | Вартість 1 л середовища ≈ 0,081 грн                              |                         |  |                            |
| <i>Synechocystis</i> WD119 (DKOX)                             | NaNO <sub>3</sub> – 1,5  | 58                      | 0,087                                      | 1                          |
|   | K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> -0,04                            | 150                     | 0,006                                      | 2                          |
|   | MgSO <sub>4</sub> – 0,075  | 50                      | 0,00375                                    | 3                          |
|   | CaCl <sub>2</sub> – 0,036  | 57                      | 0,00205                                    | 4                          |
|   | Лимонна кислота – 0,006  | 57                      | 0,00034                                    | 5                          |
|   | Цитрат заліза амонію – 0,006                                     | 4 229                   | 0,02537                                    | 6                          |
|   | Динатрій магнію ЕДТА – 0,001                                     | 23 360                  | 0,02336                                    | 7                          |
|   | Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> – 0,02                           | 73                      | 0,00146                                    | 8                          |
|   | Розчин мікроелементів – 1 мл                                     | 1,75                    | 0,00175                                    |                            |
|   | Вартість 1 л розчину мікроелементів – 1,74986 грн/л ≈ 1,75 грн/л |                         |  |                            |
|   | H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> – 2,86                            | 72                      | 0,20592                                    | 9                          |
|   | MnCl <sub>2</sub> ×4H <sub>2</sub> O – 1,81                      | 206                     | 0,37286                                    | 10                         |
|   | ZnSO <sub>4</sub> ×7H <sub>2</sub> O – 0,222                     | 57                      | 0,01265                                    | 11                         |
|   | Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ×2H <sub>2</sub> O – 0,390      | 2 390                   | 0,9321                                     | 12                         |
|   | CuSO <sub>4</sub> ×5H <sub>2</sub> O – 0,079                     | 158                     | 0,01248                                    | 13                         |
| Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ×6H <sub>2</sub> O – 0,0494 | 4 329  | 0,21385                 | 14   |                            |
| Вартість 1 л середовища – 0,151 грн/л                         |  |                         |  |                            |

**Примітка:** \* вартість компонентів вказана на грудень 2023 року.

- <https://megachem.com.ua/ua/natrievaya-selitra-natrij-azotnokislyj-ukraina-nano3.html>
- <https://prom.ua/ua/p260995616-kalij-fosfornokislyj-zameschennyj.html>
- <https://reapplus.com.ua/magnj-srchanokislij-sulfat-magnya-semivodnij-dobriwo-e518>
- [https://novohim.com.ua/catalog/budivelna-ximiya/kalcij-xloristij-xlorid-kalciyu/?attribute\\_pa\\_fasovka=25kg-ua&utm\\_medium=googleleads&utm\\_source=mobile&utm\\_campaign=20894506254&utm\\_content=&sour](https://novohim.com.ua/catalog/budivelna-ximiya/kalcij-xloristij-xlorid-kalciyu/?attribute_pa_fasovka=25kg-ua&utm_medium=googleleads&utm_source=mobile&utm_campaign=20894506254&utm_content=&sour)

- ce={source\_type}&device={device\_type}&gad\_source=1&gclid=Cj0KCQiAv8SsBhC7ARIsALIkVT3y9VdOYAKoZnTxdkTWILPbDjnLbsAJ7thpv0fhIZ\_LnkW-M6IEBzwaAnOXEALw\_wcB
5. [https://novohim.com.ua/catalog/promislova-ximiya-j-sirovina/limonna-kislota/?attribute\\_pa\\_fasovka=pack-1kg-ua&utm\\_medium=googleads&utm\\_source=mobile&utm\\_campaign=20894506254&utm\\_content=&source={source\\_type}&device={device\\_type}&gad\\_source=1&gclid=Cj0KCQiAv8SsBhC7ARIsALIkVT0dsn2oEOyHq7UJUnyoZvU-9Dj1-WNrqrHRtcJBfVM-0TEEEiRbFoTWYyaAtuTEALw\\_wcB](https://novohim.com.ua/catalog/promislova-ximiya-j-sirovina/limonna-kislota/?attribute_pa_fasovka=pack-1kg-ua&utm_medium=googleads&utm_source=mobile&utm_campaign=20894506254&utm_content=&source={source_type}&device={device_type}&gad_source=1&gclid=Cj0KCQiAv8SsBhC7ARIsALIkVT0dsn2oEOyHq7UJUnyoZvU-9Dj1-WNrqrHRtcJBfVM-0TEEEiRbFoTWYyaAtuTEALw_wcB)
  6. <https://realab.ua/uk/product/1185-57-5-ferric-ammonium-citrate>
  7. <https://uk.vwr.com/store/product/6061287/ethylenediaminetetraacetic-acid-disodium-magnesium-salt-hydrate>
  8. <https://klebrig.com.ua/ua/p2021690001-kaltsinirovannaya-soda-klebrig.html>
  9. <https://reaplus.com.ua/tetraborna>
  10. <https://prom.ua/ua/p277934134-marganets-hloristyj-vodnyj.html>
  11. [https://novohim.com.ua/catalog/dobriiva-mikroelementi-zaxist-roslin/cink-sirchanokislij/?attribute\\_pa\\_fasovka=25kg-ua&utm\\_medium=googleads&utm\\_source=mobile&utm\\_campaign=20894506254&utm\\_content=&source={source\\_type}&device={device\\_type}&gad\\_source=1&gclid=Cj0KCQiAv8SsBhC7ARIsALIkVT1y19yqtQaPF1rIhVkmUI0ViJTK2RnlVvRnoJ0JvpzSBikSoQ8IuIwaAhCYEALw\\_wcB](https://novohim.com.ua/catalog/dobriiva-mikroelementi-zaxist-roslin/cink-sirchanokislij/?attribute_pa_fasovka=25kg-ua&utm_medium=googleads&utm_source=mobile&utm_campaign=20894506254&utm_content=&source={source_type}&device={device_type}&gad_source=1&gclid=Cj0KCQiAv8SsBhC7ARIsALIkVT1y19yqtQaPF1rIhVkmUI0ViJTK2RnlVvRnoJ0JvpzSBikSoQ8IuIwaAhCYEALw_wcB)
  12. <https://prom.ua/ua/p1134038532-molibdenovokislyj-natrij-molibdat.html>
  13. [https://mychem.in.ua/p1848107898-mednyj-kuporos-mychem.html?source=merchant\\_center&gad\\_source=1&gclid=Cj0KCQiAv8SsBhC7ARIsALIkVT1vHRCRgrjsGvJNooGLHK6-oECipYo2l-p-4pSj6yJFjiiHKZ7p8-saAvyTEALw\\_wcB](https://mychem.in.ua/p1848107898-mednyj-kuporos-mychem.html?source=merchant_center&gad_source=1&gclid=Cj0KCQiAv8SsBhC7ARIsALIkVT1vHRCRgrjsGvJNooGLHK6-oECipYo2l-p-4pSj6yJFjiiHKZ7p8-saAvyTEALw_wcB)
  14. <https://www.laballey.com/products/cobalt-nitrate-crystal-lab?variant=7218974588987>
  15. [https://prom.ua/ua/p1090607359-kalij-hloristyj-hlorid.html?utm\\_source=google\\_product&utm\\_medium=cpc&utm\\_content=pla&utm\\_campaign=KT\\_cp\\_c\\_1&gad\\_source=1&gclid=Cj0KCQiAv8SsBhC7ARIsALIkVT18aQ8YJbBJWag5pb5hDPOMY34Jo3wchc-Fqic4-dLtkcz\\_P4y8384aAleAEALw\\_wcB](https://prom.ua/ua/p1090607359-kalij-hloristyj-hlorid.html?utm_source=google_product&utm_medium=cpc&utm_content=pla&utm_campaign=KT_cp_c_1&gad_source=1&gclid=Cj0KCQiAv8SsBhC7ARIsALIkVT18aQ8YJbBJWag5pb5hDPOMY34Jo3wchc-Fqic4-dLtkcz_P4y8384aAleAEALw_wcB)
  16. [https://www.alibaba.com/product-detail/Ferric-Citrate-Iron-III-Citrate-CAS\\_1600979376818.html?s=p](https://www.alibaba.com/product-detail/Ferric-Citrate-Iron-III-Citrate-CAS_1600979376818.html?s=p)
  17. <https://shop.hlr.ua/kobalt-hloristyj-6-vodn-chda-97838.html>

З огляду на вартість поживних середовищ для культивування ціанобактерій, табл. 2.2, можна однозначно зробити висновок що найбільша вартість культивування характерна для *Synechocystis* WD119 (DKOX), так як вартість 1 л поживного середовища для даного продуцента є найбільшою та становить 0,151 грн/л, дешевшу вартість має *Synechococcus elongatus* UAM-C/S03 вартість 1 л поживного середовища якого становить 0,081 грн/л, а найдешевшу вартість 1 л поживного середовища (0,072 грн/л) притаманна *Synechocystis* sp. PCC 6714/MT\_a24. Зважаючи що у даних представників різної концентрація синтезованого полігидроксибутирату з розглянутих даних неможливо визначити оптимального біологічного агента для промислового виробництва, тому необхідно розглянути дані представлені в табл. 1.5, а саме умовну вартість синтезованого полігидроксибутирату.

**Умовна вартість синтезу полігидроксибутирату при культивуванні  
*Synechococcus elongatus* UAM–C/S03, *Synechocystis* sp. PCC 6714/MT\_a24  
та *Synechocystis* WD119 (DKOX)**

| Біологічний агент                        | Вартість 1 л середовища, грн | Концентрація ПГБ, г/л | Умовна вартість синтезу ПГБ, грн/г | Тривалість культивування, год | Кількість синтезованого ПГБ за годину, мг/год |
|--|------------------------------|-----------------------|------------------------------------|-------------------------------|---|
| <i>Synechococcus elongatus</i> UAM–C/S03 | 0,081                        | 0,315                 | 0,257                              | 216                           | 1,458   |
| <i>Synechocystis</i> sp. PCC 6714/MT_a24 | 0,072                        | 1,332                 | 0,054                              | 450                           | 2,96  |
| <i>Synechocystis</i> WD119 (DKOX)        | 0,151                        | 0,291                 | 0,519                              | 960                           | 0,303   |

Розглянувши дані представлені в табл. 2.3, можна однозначно зробити висновок що використання *Synechocystis* WD119 (DKOX) для промислового виробництва полігидроксибутирату є економічно не вигідним так як при вирощуванні даного біологічного агента умовна вартість 1 г синтезованого продукту є найбільшою (0,519 грн/г) та кількість синтезованого продукту за год найменшою (0,303 мг/год). Кращими показниками синтезованого продукту за год володіє *Synechococcus elongatus* UAM–C/S03, який спроможний синтезувати 1,458 мг/год, а також даний продуцент володіє меншою умовною вартістю 1 г синтезованого полігидроксибутирату (0,257 грн/г), але дані показники є значно гіршими в порівнянні з *Synechocystis* sp. PCC 6714/MT\_a24, який синтезує 2,96 мг/год та володіє найменшою умовною вартістю полігидроксибутирату (0,054 грн/г).

Підсумовуючи все вище зазначене, можна зробити висновок, що в процесі порівняння ціанобактерій для виробництва полігидроксибутирату найкращим варіантом для виробництва ПГБ є *Synechocystis* sp. PCC 6714/MT\_a24, через найменшу умовну вартість отриманого продукту (0,054 грн/г) та найбільшу кількість синтезованого полігидроксибутирату за год (2,96 мг/год).

### 1.3. Шляхи використання полігидроксибутирату

Полігидроксибутират привернув до себе значну увагу як екологічно чистий біополімер, пропонуючи стійку альтернативу традиційним пластмасам, отриманим з нафтохімії. Біорозкладність і біосумісність роблять його привабливим матеріалом у різних галузях промисловості, особливо там, де вплив на навколишнє середовище викликає занепокоєння. Полігидроксибутират отриманий в результаті життєдіяльності мікроорганізмів демонструє функціональні властивості які притаманні синтетичним полімерам, що робить його перспективним кандидатом в якості альтернативи звичним пластикам, для подальшого зменшення пластикових відходів. Через схожі з синтетичними полімерами властивостями та притаманну біорозкладність полігидроксибутират може використовуватись в харчовій та медичній промисловостях, розглянемо більш детально способи використання даного полімеру.

В харчовій промисловості полігидроксибутират можна використовувати в якості пакування, чистий полігидроксибутират є відносно крихким і може демонструвати низьку гнучкість, що може призвести до тріщин при використанні в якості харчового пакування з огляду на дану інформацію *Manikandan* з співавторами оцінювали можливість покращення властивостей нанокompозиту полігидроксибутирату для пакування харчових продуктів [37]. В результаті досліджень вчені визначили що додаткове внесення 0,7% графенових нанопластин до полігидроксибутирату значно покращує показники термостабільності, міцності на розрив та зменшення проникнення ультрафіолетового та видимого світла. В подальшому вчені з отриманим матеріалом провели модельне дослідження з визначення терміну придатності при використанні даного матеріалу під час пакування картопляних чіпсів та молочних продуктів, в результаті отриманий матеріал продемонстрував чотирикратне збільшення терміну зберігання, що свідчить що даний матеріал має перспективи в використанні в якості пакувального матеріалу для харчових продуктів.

На додаток до звичної заміни пластику на біодеградабельний природній полімер, полігідроксибутират також може використовуватись в антимікробних плівкових покриттях, які допомагають зберігати продукт більш тривалий період, що з врахуванням щорічної кількості викинутих продуктів через їх псування [38] є важливим на сьогодні.

В дослідженні [39] розглядали можливість виробництва антимікробних плівок на основі полігідроксибутирату з додаванням ваніліну. Під час досліджень визначали антимікробні властивості отриманих плівок з різними концентраціями ваніліну проти харчових патогенів, а саме *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella flexneri* та *Staphylococcus aureus*, а також грибів, таких як *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus ochraceus*, *Penicillium viridicatum* та *Penicillium clavigerum*. В результаті експериментів було встановлено що отримані плівкові покриття демонстрували зниження максимального термічного розкладання і міцності плівок на розрив однак в результаті швидкого вивільнення ваніліну в харчові продукти вони демонстрували гарні показник мінімальної інгібуючої дії, а саме для бактерій від 80 мкг/г ПГБ, а для грибів від 50 мкг/г ПГБ.

*Correa* з співавторами [40] досліджували вплив активації нізином біорозкладної плівки полігідроксибутирату/полікапролактону на покращення термінів зберігання шинки. В ході дослідів було встановлено що отримана плівка дозволяла збільшити термін зберігання шинки шляхом значного інгібування *Lactobacillus plantarum* CRL691 який використовувався як модельна бактерія псування обробленого м'яса.

В 2018 році вчені проводили дослідження спрямоване на визначення можливості використання біорозкладної упаковки для зберігання лосося [41]. В результаті дослідів було встановлено що використання плівкового покриття з полімолочної кислоти/полігідроксибутирату з внесенням гліцерин монолаурату в якості пластифікатора демонструє значно менші показники утворених бактерій 4,65 КУО/г на 17 день, в той час як також плівка тільки з

внесенням монокаприліну гліцерату в якості пластифікатору та плівка на основі етиленвінілового спирту демонстрували значно гірші показники а саме 6,65 і 6,35 КУО/г на 15-й день зберігання, відповідно.

В 2020 році вчені досліджували вплив внесення ефірних олій в плівки з полігидроксibuтирату на антимікробні властивості [42]. В результаті внесення ефірних олій в плівки з полігидроксibuтирату покращило термічну стабільність плівок і знизило температуру плавлення полімеру в результаті його пластифікації, в порівнянні з чистим полігидроксibuтиратом. Також комбінація ефірних олій в плівках з полігидроксibuтирату, а саме кориці і чайного дерева (мелалеуки) та кориці і цитронелли демонстрували антимікробний ефект по відношенню до *Salmonella* sp. ATCC 13076, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 19093, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Aspergillus niger* ATCC 6275 та *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228.

Також перспективним напрямком використання полігидроксibuтирату є біомедичне направлення, через біодоступність даного матеріалу. Розглянемо наявні на сьогодні статті в яких відбувається вивчення можливостей використання цього полімеру в даному направленні.

Одним із перспективних варіантів використання полігидроксibuтирату в медичному направленні є використання його в кістковій інженерії, так *Karahaliloglu* з співавторами оцінювали вплив створених наноструктур з полігидроксibuтирату на клітинні функції остеобластів [43]. Для створення мембран з полігидроксibuтирату, вчені проводили лужну обробку полімеру гідроксидом натрію, дана обробка дозволила збільшити гідрофільність поверхні полігидроксibuтирату. Отримана мембрана демонструвала покращену проліферації людських остеобластів, а також інгібувала ріст *Staphylococcus aureus* більш ніж на 60% після 48 годин культивування.

*Degli Esposti* з співавторами розробляли біосумісні та біорозсмоктувані наноструктурні пористі каркаси на основі полігидроксibuтирату для інженерії кісткової тканини [44]. Пористий каркас був отриманий шляхом утворення

гідроксиапатиту в полігідроксибутираті шляхом термічно індукованого розділення фаз. Отриманий матеріал демонстрував повну цитосумісність та здатність підтримувати адгезію і проліферацію мишачих преостеобластних клітин MC3T3-E1, а також на створеному каркасі переважали клітини остецитоподібної морфології.

*Meischel* з співавторами оцінювали вплив імплантів полімерних композитів з полігідроксибутирату на кістки щурів [45]. Дослідження проводили на стегновій кістці зростаючих щурів, в результаті яких було встановлено що композит PNB з  $ZrO_2$ , 30% вмістом Herafill, а також Mg-сплав WZ21 показали найвищі показники накопичення кісткової тканини навколо імплантату, а також усі досліджувані варіанти полігідроксибутиратових композитів не демонстрували розкладання після 36 тижнів, показники пружності, міцності на розрив та деформаційні властивості отриманих композитів близькі до кістки, однак сила адгезії адгезії між кісткою та імплантатами є низькою.

В 2023 році вчені досліджували вплив крохмалю на полігідроксидні каркаси для інженерії кісткової тканини [46]. В результаті проведених експериментів було встановлено що оптимальна концентрація крохмалю в полігідроксибутиратному каркасі становить 10 %, дане доповнення спричиняє збільшенню міцності на розрив отриманого каркасу, а також збільшується проліферація клітин MG-63 та активність лужної фосфатази. В сформованих клітинах MG-63 на полімерному каркасі, відбувається мінералізація та відкладення кальцію, що робить даний каркас перспективним кандидатом в подальшій інженерії кісткової тканини.

Ще одним перспективним способом використання в медичному напрямленні полігідроксибутират є застосування його в якості агента для доставки ліків.

*Chaturvedi* з співавторами оцінювали можливість використання полігідроксибутирату в якості агента для пероральної доставки інсуліну [47]. В якості агента для доставки інсуліну, вчені використовували пегільований

полігидроксибутират, конюгований дезоксихолевою кислотою, в результаті отримані наночастинки з інкапсульованим інсуліном, демонстрували незначне вивільнення речовини в кислому середовищі та повне вивільнення в лужному середовищі. Тестування *in vivo* продемонструвало що при внесенні досліджуваних наночастинок з інкапсульованим інсуліном діабетичним щурам, призводило до значного зменшення рівня глюкози в крові починаючи з 4 год до 24 год, тобто даний спосіб доставки інсуліну дозволяв його вводити з пролонгованим вивільненням.

В 2016 році вчені оцінювали використання полігидроксибутирату як потенційного наноносія для доставки протипухлинних пептидів [48]. В ході експериментів вчені спочатку провели конюгацію полігидроксибутирату з поліетиленгліколем та в подальшому шляхом подвійного випаровування емульсії розчинника інкапсульювали протираковий пептид NuBCP-9. Ефективність інкапсульюції препарату в отриманні наночастинок становила 61 %, а час вивільнення пептиду становив 26 діб. Дані наночастинок продемонстрували індукції апоптозу у клітинах MCF-7, а також вчені проводили внутрішньоочеревинне введення 20 мг/кг наночастинок полігидроксибутирату з інкапсульованим пептидом двічі на тиждень протягом трьох тижнів мишам, що спричинило 90% регресію пухлин.

*Babos* з співавторами оцінювали можливість використання наночастинок полігидроксибутирату для доставки комбінації протипухлинних препаратів, а саме сорафенібу та доксорубіцину [49]. В результаті досліджень шляхом випарювання емульсії з розчинником було отримано наночастинок полігидроксибутирату з інкапсульованим доксорубіцином та сорафенібом, також вчені проводили ще додаткову конюгацію отриманих наночастинок поліетиленгліколем. В подальшому досліджували цитотоксичність отриманих наночастинок з інкапсульованими препаратами на клітинах колоректальної карциноми HCT-116, результати експериментів продемонстрували що через 6 годин обидва варіанти наночастинок діяли подібно до контрольного розчину

препаратів, в той час як через 24 год цитотоксичний ефект наночастинок значно посилювався.

*Perveen* з співавторами досліджували ефективність наночастинок полігидроксibuтирату завантажених епірубіцином [50]. Наночастинок полігидроксibuтирату з інкапсульованим епірубіцином, було отримано шляхом нанопреципітації. В результаті отримані наночастинок з препаратом продемонстрували тривале вивільнення препарату (8 днів) при рН 4,0, в той час як при рН 7,0 вивільнення препарату відбувалось значно швидше (2 дні). Також при визначенні антибактеріальних властивостей отриманих наночастинок полігидроксibuтирату з інкапсульованим епірубіцином, вони продемонстрували значно кращий результат в порівнянні з стандартним використанням препарату, покращення антибактеріальних властивостей відбулось приблизно в 6,5 разів проти метицилін-резистентного *Staphylococcus aureus*.

*Pandian* з співавторами вивчали використання наночастинок полігидроксibuтирату для доставки урсолової кислоти з метою терапії раку [51]. В ході дослідів було виявлено що інкапсуляція урсолової кислоти в наночастинок полігидроксibuтирату становить 54 %, а також встановлено що максимальна ефективність доставки сформованих наночастинок відбувалась на 96 год, що підтверджується максимальною цитотоксичністю по відношенню до ракових клітин (HeLa).

Полігидроксibuтират також демонструє значний потенціал у формуванні каркасів. Його застосування охоплює інженерію опорно-рухового апарату та нервової тканини, де він підтримує адгезію, проліферацію та диференціацію клітин, а також сприяє процесам регенерації та відновлення тканин.

*Ching* з співавторами досліджували використання нановолокнистих каркасів, виготовлених із сумішей полігидроксibuтирату/полігидроксіоктаноату, для інженерії хрящової тканини [52]. Конструкції були виготовлені за допомогою електропрядіння, в результаті чого були отримані волокнисті структури, що імітують сітку

колагенових фібрил нативного хряща. Дослідження дозволило оптимізувати жорсткість, швидкість деградації та біосумісність каркасів, виявивши, що співвідношення полігідроксибутирату/полігідроксіоктаноату в співвідношенні 1 до 0,25 забезпечує міцність, близьку до міцності нативного хряща. *In vitro* людські суглобові хондроцити, культивовані на цих каркасах, продемонстрували високу життєздатність з утворенням гіаліноподібного хряща. Протягом чотирьох місяців деградація каркасу зменшувала його міцність, що сприяло інтеграції новоутвореного хрящового матриксу. Дослідження продемонструвало, що полігідроксибутират/полігідроксіоктаноат каркаси є перспективними для клінічної регенерації хряща і можуть слугувати платформою для створення каркасів для інших тканин.

*Sanhueza* з співавторами досліджували вплив комбінування нановолокон желатину подвійного розміру з мікрОВОлокнами полігідроксибутирату для загоєння діабетичних ран [53]. Оптимізовані умови електроспінінгу дозволили отримати в результаті структуру, що імітує позаклітинний матрикс, - біоміметичний каркас. Зшитий з геніпіном, цей каркас продемонстрував високу життєздатність фібробластів, гемосумісність та покращене загоєння ран у діабетичних щурів. Каркас желатин/полігідроксибутират покращив регенерацію тканин завдяки кращому формуванню епідермісу, відкладенню колагену та розвитку волосяних фолікулів, перевершуючи монокомпонентні каркаси та контрольні зразки.

*Köse* з співавторами оцінили взаємодію мезенхімальних стовбурових клітин людини з випадковими r-ПГБ та вирівняними a-ПГБ електроспінованими ПГБ-матрицями [54]. Вони виявили, що мезенхімальних стовбурові клітини на a-ПГБ матрицях мають веретеноподібну морфологію та вищу остеогенну диференціацію, в той час як r-ПГБ підтримують більш рівномірне поширення клітин. Обидві матриці сприяли адгезії, життєздатності та диференціації мезенхімальних стовбурових клітин, що вказує на потенціал для застосування в інженерії кісткової та нервової тканин.

*Codreanu* з співавторами досліджували потенціал модифікованого бактеріальною целюлозою полігидроксибутирату для створення кісткової тканини при критичних кальваріальних дефектах у мишей [55]. Дослідження продемонструвало, що матриця полігидроксибутират/целюлоза підтримує проліферацію преадипоцитів 3T3-L1 та сприяють диференціації остеобластів *in vivo*, що призводить до утворення нової кісткової тканини через 20 тижнів. Посилення остеогенезу пояснювалося підвищенням активності лужної фосфатази та мінералізацією, що спостерігалася за допомогою рентгенографії, та гістологічними ознаками зрілої кісткової тканини. Матриці мали механічні властивості, близькі до кісткової тканини, і продемонстрували біосумісність без значної токсичності. Ці результати свідчать про те, що матриця полігидроксибутират/целюлоза може слугувати ефективним біоматеріалом для відновлення великих кісткових дефектів.

## РОЗДІЛ 2. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ ВИРОБНИЦТВА ПОЛІГІДРОКСИБУТИРАТУ

### 2.1. Характеристика полігидроксибутирату

Полігидроксибутират це природний вуглецевий полімер, який виробляється мікробною ферментацією, даний полімер утворюється в результаті запасу вуглецю всередині клітини та з'єднання складноефірним зв'язком декількох мономерів 3-гідроксибутирату [56], хімічна структура наведена на рис. 2.1.

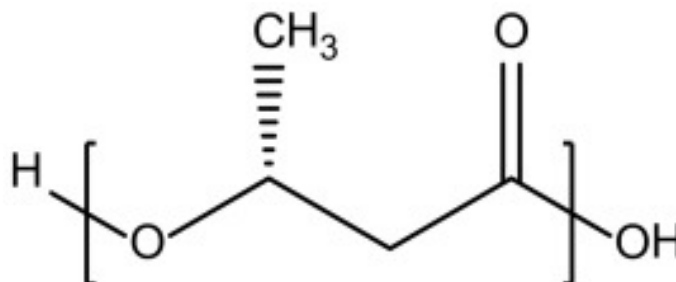


Рис. 2.1. Хімічна структура полігидроксибутирату

Даний полімер відноситься до біорозкладного пластику, який не виділяє шкідливих залишків у навколишньому середовищі в порівнянні з звичними пластмасами [57]. Полігидроксибутират є водонерозчинним і відносно стійкий до гідролітичного розкладання, володіє гарною киснепроникністю, проявляє стійкість до ультрафіолету, але слабку стійкість до кислот і лугів, розчинний у хлороформі та інших хлорованих вуглеводнях, нетоксичний та біосумісний, тоне у воді. За своїми властивостями даний полімер демонструє хороші бар'єрні властивості порівняно з поліетилентерефталатом і полівінілхлоридом, та має вищу бар'єрну проникність, ніж поліетилен та поліпропілену, більш детальне порівняння полігидроксибутирату з іншими пластмасами наведено в табл. 2.1 [58].

|           |      |                |        |      |   |      |         |
|-----------|------|----------------|--------|------|---|------|---------|
|           |      |                |        |      | <b>НУХТ БТЕК 02.01.10 КР ПЗ</b>   |      |         |
| Змн.      | Лист | № докум.       | Підпис | Дата | РОЗДІЛ 2. Техніко-економічне обґрунтування виробництва полігидроксибутирату |      |         |
| Розроб.   |      | Кравченко В.В. |        |      |   |      |         |
| Перевір.  |      | Пирог Т.П.     |        |      |   |      |         |
| Реценз.   |      |                |        |      |   |      |         |
| Н. Контр. |      |                |        |      |   |      |         |
| Затверд.  |      | Стабніков В.П. |        |      | Літ.  | Арк. | Аркушів |
|           |      |                |        |      | 37  | 6    |         |
|           |      |                |        |      | <b>Кафедра БТМ</b>  |      |         |

**Порівняння механічних властивостей ПГБ з звичними пластмасами**

| <b>Властивість</b>              | <b>ПГБ</b> | <b>PP</b> | <b>PET</b> | <b>LDPE</b> | <b>HDPE</b> |
|---------------------------------|------------|-----------|------------|-------------|-------------|
| Модуль міцності на розтяг (ГПа) | 3–3.5      | 1.95      | 9.35       | 0.26–0.5    | 0.5–1.1     |
| Міцність на розрив (МПа)        | 20–40      | 31–45     | 62         | 30          | 30–40       |
| Подовження при розриві (%)      | 5–10       | 50–145    | 230        | 200–600     | 500–700     |
| Ступінь кристалічності (%)      | 50–60      | 42.6–58.1 | 7.97       | 25–50       | 60–80       |
| Температура плавлення (°C)      | 165–175    | 160–169.1 | 260        | 115         | 135         |
| Температура склування (°C)      | 5–9        | –20––5    | 67–81      | –130–100    | –130–100    |

Через свої властивості має широкий спектр використання, та може застосовуватись в наступних напрямках [59]:

- **Пакувальна тара:** використовується у виробництві біорозкладаних пакувальних матеріалів, включаючи плівки, пакети та контейнери, одноразові столові прилади, тарілки та чашки.
- **Медичне та фармацевтичне застосування:** біосумісність ПГБ робить його придатним для використання в медичних імплантатах, таких як шовні нитки, кісткові пластини та гвинти, які поступово руйнуються в організмі, усуваючи необхідність хірургічного видалення, також даний полімер можна використовувати для створення систем доставки ліків, які вивільняють ліки з контрольованою швидкістю.
- **Сільськогосподарське застосування:** виробництво плівок для покриття ґрунту які запобігатимуть росту бур'яну та утримуватимуть вологу, а також можна використовувати для інкапсуляції добрив задля подальшого контрольованого вивільнення речовин.

Через збільшення попиту на біодеградабельні полімери у всьому світі зросла кількість компаній які займаються виробництвом даних речовин, на сьогодні найбільшими виробниками біопластику (серед якого представлений і полігидроксibuтира) у світі є наступні фірми:

AGRANA Beteiligungs-AG (Австрія), Green Dot Bioplastics (США), TianAn Biologic Materials Co., Ltd. (Китай), Tianjin GreenBio Materials Co., Ltd. (Китай), Cardia Bioplastics (Австралія), PolyFerm Canada (Канада), BASF SE (Німеччина), Kaneka Corporation (Японія), Biome Technologies PLC (Великобританія).

## **2.2. Огляд ринку полігидроксибутирату**

Серед наведених в першому підрозділі сфер використання полігидроксибутирату найбільш перспективним на сьогодні є використання його в пакувальній промисловості, так як за своїми властивостями він схожий з поліетиленом та поліпропіленом, а враховуючи збільшення всесвітнього занепокоєння через забруднення навколишнього середовища пластиківими відходами та в результаті посилення державного регулювання по використанню недеградабельних пластиків, полігидроксибутират є чудовою альтернативою звичним полімерам.

Згідно даних Державної служби статистики України за 2021 рік, кількість вироблених мішків та пакетів зі стрічки поліетиленової чи поліпропіленової для пакування товарів (крім трикотажних машинного чи ручного в'язання) становить 18 471,89 т [60].

Зважаючи на біодеградабельність цільового продукту, та наявну різну інформацію по часу розкладання, в основному від декількох тижнів [61], для використання в пакувальній промисловості необхідно передбачити що полігидроксибутират використовуватимуть для пакування продуктів, що швидко псуються. Враховуючи що статистичні дані за зазначеним сегментом відсутні, проведемо теоретичні розрахунки, обравши в якості продуктів з коротким терміном зберігання хлібобулочну продукцію. Найбільш свіжа статистична інформація для даного типу продукту представлена за 2020 рік, так в даному звіті Державної служби статистики України кількість виробленого хлібу та виробів нетривалого зберігання за 2020 рік становить 794 783,9 т, хлібу житнього - 6 167,0 т, хлібу пшеничного - 322 367,9 т, хлібу житньо-пшеничного та пшенично-житнього – 242 420,8 т.

Для зручності подальших розрахунків доцільно об'єднати перераховані дані, в один показник, отже загальна кількість виробленої продукції становить

$$794\,783,9 \text{ т} + 6\,167,0 \text{ т} + 322\,367,9 \text{ т} + 242\,420,8 \text{ т} = 1\,365\,739,6 \text{ т}$$

Припустимо що серед заданої кількості продукції половина призначена для продажу цілою хлібиною (прийmemo вагу даної продукції 900 г), а інша половина для продажу по половинками (прийmemo вагу даної продукції 450 г), розрахуємо теоретичну кількість буханок для визначення приблизної кількості використовуваних пакетів.

$$1\,365\,739,6 \text{ т} / 2 * 1000 / 0,9 \text{ кг} = 758\,744\,222 \text{ упаковок}$$

$$1\,365\,739,6 \text{ т} / 2 * 1000 / 0,45 \text{ кг} = 1\,517\,488\,444 \text{ упаковок}$$

Припустимо що вага одного пакета для цілої хлібини становить 5 г а для половинок 2,5 г, розрахуємо теоретичну кількість пластику використуваного для виготовлення раніше розрахованої кількості упаковки.

$$758\,744\,222 \text{ упаковок} * 5 \text{ г} = 3\,793\,721\,110 \text{ г} \text{ або } 3\,793,7 \text{ т}$$

$$1\,517\,488\,444 \text{ упаковок} * 2,5 \text{ г} = 3\,793\,721\,110 \text{ г} \text{ або } 3\,793,7 \text{ т}$$

Отже, загальна кількість пластику становить,  $3\,793,7 \text{ т} + 3\,793,7 \text{ т} = 7\,587,4 \text{ т}$ . Враховуючи велику кількість реалізованої продукції припустимо що лише 0,5 % виробників хлібобулочної продукції використовуватимуть пакування з біодеградабельного пластику, тоді кількість необхідного пластику становитиме:

$$7\,587,4 \text{ т} * 0,005 = 37,937 \text{ т}$$

Також слід врахувати що з червня 2021 року набув чинності Закон України «Про обмеження обігу пластикових пакетів на території України» [62], що в свою чергу сприяло розвитку вітчизняних компаній які займаються виробництвом біодеградабельних пластиків. Тому на сьогодні в даному сегменті наявні конкуруючі умови через що прийmemo, що можлива кількість реалізованої продукції становитиме 2 % від загальної потреби, отже необхідна кількість полігiдроксибутирату становитиме:

$$37,937 \text{ т} * 0,02 = 0,7587 \text{ т} = 758,7 \text{ кг}$$

Беручи до уваги що виробники завжди намагаються поліпшити продукт та зменшити його собівартість, на сьогодні наявна велика кількість досліджень присвячених покращенню властивостей та зменшення його собівартості, так як в різних дослідженнях використовується різні методики поліпшення кінцевого продукту для пакувальної тари оптимальним варіантом буде використовувати методику наведено в статті [63]. В даній статті доводиться що змішування полігідроксибутирату з подрібненим крохмалем у співвідношенні 70:30% призводить до зменшення собівартості отриманого пластику без втрати початкових властивостей полігідроксибутирату, тому початкову потребу можна зменшити на 30 % які будуть замінені крохмалем, тоді загальна потреба становитиме:

$$758,7 \text{ кг} - 30 \% = 531,1 \text{ кг}$$

Підсумовуючи вище наведену інформацію загальна потреба полігідроксибутирату для виготовлення пакувальної тари для продуктів з коротким терміном зберігання становитиме 531,1 кг/рік.

### **2.3. Розрахунок річної потужності виробництва полігідроксибутирату**

Встановивши річну потребу в полігідроксибутираті, слід розрахувати потужність виробництва з врахуванням синтезувальних характеристик продуцента, за допомогою якого відбуватиметься виробничий синтез.

Виробничий синтез полігідроксибутирату проводиться при культивуванні *Synechocystis* sp. PCC 6714/MT\_a24 впродовж 450 год, який накопичує 3,6 г/л біомаси з 37 % вмістом полігідроксибутирату [64]. Отже, за цикл виробляється  $3,6 \text{ г/л} \times 37 \% = 1,332 \text{ г/л}$  полігідроксибутирату.

Для виробництва річної потреби полігідроксибутирату з врахуванням кількості утвореного продукту при культивуванні *Synechocystis* sp. PCC 6714/MT\_a24 необхідна наступна кількість культуральної рідини:

$$531,1 \text{ кг} / 1,332 \text{ кг/м}^3 = 398,7 \text{ м}^3$$

Враховуючи сумарні втрати цільового продукту при виділенні (8 %), необхідно отримати таку кількість культуральної рідини:

$$398,7 \text{ м}^3 / (1 - 0,08) = 433,4 \text{ м}^3$$

Розрахуємо кількість культуральної рідини яку необхідно отримати за цикл ферментації. Приймаємо кількість робочих трудоднів ( $T_{рд}$ ) = 272, тоді кількість продукту на добу ( $V_d$ ) становитиме:

$$433,4 \text{ м}^3 / 272 = 1,59 \text{ м}^3$$

Кількість продукту за цикл ( $V_{щ}$ ) буде становити:

$$V_{щ} = \frac{K_1 * V_d * T_{цф}}{24} = \frac{1,1 * 1,59 * 460}{24} = 33,53 \text{ м}^3/\text{цикл}$$

де  $T_{цф}$  – цикл роботи ферментера, який включає тривалість виробничого біосинтезу (450 год) та час підготовки ферментера до роботи (10 год).  $K_1$  – коефіцієнт запасу, що враховує можливість нестерильних операцій  $K_1 = 1,1$ .

Виробниче культивування можна провести в фотобіореакторі об'ємом  $40 \text{ м}^3$  [65].

### РОЗДІЛ 3. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ПІСЛЯФЕРМЕНТАЦІЙНИХ ПРОЦЕСІВ ОТРИМАННЯ ПОЛІГІДРОКСИБУТИРАТУ

Наступною важливою частиною виробництва полігидроксibuтирату, після стадії виробничого синтезу є етап виділення та очищення цільового продукту. Зважаючи на внутрішньоклітинне місце локалізації полігидроксibuтирату на сьогодні існує декілька варіантів його виділення, а саме: екстракція розчинником або руйнування клітинної стінки хімічними або фізичними методами. В подальшому відбувається виділення екстрагованого полімеру та подальше сушіння, у випадку з екстракцією розчинником перед стадією виділення полімеру впроваджується перекристалізація антирозчинником [66-68]. У даних методів чистота та вихід отриманого продукту знаходиться на високому рівні більше 82 % та 94 %, відповідно.

#### 3.1. Виділення біомаси

Полігидроксibuтират це внутрішньоклітинний метаболіт, який синтезується в клітині, тому на першому етапі необхідно отримати клітини продуцента в яких знаходиться полігидроксibuтират, для виділення біомаси зазвичай використовують центрифугування, фільтрування або сепарування. Розглянемо переваги та недоліки даних методів для визначення оптимального способу виділення біомаси з культуральної рідини.

Центрифугування – це процес розділення компонентів суміші під дією відцентрової сили, що виникає при обертанні зразка на високій швидкості. Перевагами центрифугування є швидкість і ефективність розділення, а недоліками – висока вартість обладнання та висока енергоємність процесу.

Фільтрування – це процес розділення суміші на складові шляхом проходження через пористий матеріал, що затримує тверді частинки.

|           |      |                |        |      |  |             |      |         |
|-----------|------|----------------|--------|------|--|-------------|------|---------|
|           |      |                |        |      | НУХТ БТЕК 02.01.10 КР ПЗ   |             |      |         |
| Змн.      | Лист | № докум.       | Підпис | Дата |  |             |      |         |
| Розроб.   |      | Кравченко В.В. |        |      | РОЗДІЛ 3. Обґрунтування вибору післяферментаційних процесів отримання полігидроксibuтирату | Літ.        | Арк. | Аркушів |
| Перевір.  |      | Пирог Т.П.     |        |      |  |             | 43   | 9       |
| Реценз.   |      |                |        |      |  | Кафедра БТМ |      |         |
| Н. Контр. |      |                |        |      |  |             |      |         |
| Затверд.  |      | Стабніков В.П. |        |      |  |             |      |         |

Перевагами фільтрування є простота і доступність методу, а недоліками – повільність процесу та можливість забивання фільтра.

Сепарування – це процес розділення компонентів суміші на окремі фракції на основі їх фізичних або хімічних властивостей, таких як щільність, розмір частинок, розчинність. До переваг відносять високу точність процесу та ефективність, а до недоліків високу вартість обладнання, складність процесу та великі енерговитрати.

В результаті одного виробничого циклу отримують приблизно 33,5 м<sup>3</sup> культуральної рідини враховуючи великий об'єм рідини для виділення біомаси доцільно використовувати фільтрування, так як за допомогою даного методу можна обробити великий об'єм рідини в невеликі терміни, отже підсумовуючи вищенаведену інформацію першим етапом процесу виділення та очищення полігідроксибутирату буде фільтрування.

### **3.2. Виділення полігідроксибутирату**

В результаті першого етапу виділення отримано біомасу в якій знаходиться цільовий продукт, щоб виділити полігідроксибутирату з клітини необхідно зруйнувати клітину, для цього використовують декілька методів, а саме екстракція розчинником, хімічний руйнування клітини, або фізичний метод руйнування клітин. Розглянемо більш детально дані методи для визначення оптимального варіанту.

В статті [66] описується метод виділення полігідроксибутирату за допомогою хлороформу або 1,2-пропілен карбонат, в ході даних експериментів біомасу руйнували в хлороформі або 1,2-пропілен карбонаті витримували при певній температурі та в подальшому відділяли уламки клітин фільтруванням і проводили подальше виділення полімеру етанолом або ацетоном. В результаті даних експериментів отримано продукт з чистотою 98 % та виходом 94 % для хлороформу з етанолом, та 84 % чистота і вихід 95 % для 1,2-пропілен карбонату з ацетоном.

До фізичного руйнування клітин можна віднести методику описану в статті [68]. В дані методиці для руйнування клітин використовували

гомогенізатор високого тиску, методика полягає в наступному біомасу суспендують в 5 % розчині додецилсульфату натрію (SDS) та оброблюють двоступеневим гомогенізатором високого тиску з тиском  $500 \text{ кгсм}^{-2}$  з потрібним повторенням, в результаті отримують полігідроксибутират чистотою 94 % та виходом 98 %. Але недоліком даного процесу є необхідність попередньої обробки клітин для подальшого розчинення неpolімерних матеріал.

Хімічний метод руйнування клітин полягає також в використанні хімічних речовин для руйнування клітинної стінки та подальше використання розчинника, наприклад хлороформу, як наприклад в статті [69]. В даній статті відбувається витримування біомаси впродовж 90 хв в 30 % розчині натрію гіпохлориту та подальша екстракція хлороформом, в результаті даної методики отримують полігідроксибутират чистотою приблизно 97 % та виходом 91 %.

В результаті огляду вищенаведеної інформації оптимальним варіантом для видалення полігідроксибутирату з клітини буде варіант з екстракцією хлороформом та подальшим осадженням етанолом, так як дані розчини мають меншу вартість в порівнянні з іншими компонентами та їх легше відновити.

Отже процес виділення полімеру виглядатиме наступним чином: біомасу після фільтрування направляють в реактор де відбувається суспендування її в хлороформі (50 мл хлороформу на 1 г вологої біомаси) та витримують в реакторі впродовж 2 год при постійному перемішуванні та  $60 \text{ }^\circ\text{C}$ . В подальшому проводять фільтрування для видалення клітинних залишків.

### **3.3. Концентрування**

В результаті фільтрування екстракту, отримують великий об'єм фільтрату в якому найбільшу частку об'єму займає хлороформ, для інтенсифікації подальших етапів очищення та зменшення кількості наступних реагентів необхідно провести концентрування розчину. Концентрування можна виконати за допомогою ультрафільтраційної установки або вакуум-випраної установки, враховуючи що хлороформ має невелику точку кипіння

(61,2 °C) найбільш доцільно використовувати саме цей спосіб, так як при випаровуванні його в подальшому можна конденсувати та повторно використовувати, що здешевить процес виробництва, а при ультрафільтрації отриманий розчин матиме непотрібні домішки, що негативно впливатиме на подальше повторне використання.

Отже, процес концентрування виглядатиме наступним чином, фільтрат направляють в вакуум-випарну установку де відбувається підтримання сталої температури на рівні 62 °C, процес концентрування відбувається до зменшення початкового об'єму в 4 рази. Отриманий концентрат направляють на подальші стадії очищення цільового продукту, а випарений хлороформ направляється на відновлення для повторного використання.

### **3.4. Осадження полігідроксибутирату**

В результаті концентрування розчину отримуємо розчин хлороформу з розчиненим в ньому полігідроксибутиратом та іншими розчиненим в ньому компонентами, для отримання чистого продукту необхідно провести осадження цільового продукту. Розглядаючи статті очищення полігідроксибутирату при використанні в якості екстрагенту хлороформу завжди використовують охолоджений етанол, це обумовлено нерозчинністю полігідроксибутирату в етанолі що в свою чергу призводить до випадіння його в осад при великих концентраціях даного розчину.

Отже, процес осадження полігідроксибутирату виглядатиме наступним чином: в реактор з концентратом додають десятикратний об'єм охолодженого етанолу та проводять перемішування, в результаті відбувається випадіння полігідроксибутирату в осад та для подальшого видалення якого отриманий розчин направляють на фільтрувальну установку, після фільтрування осад полігідроксибутирату направляють на стадію сушіння а фільтрат в вакуум-випарну установку для відновлення.

### **3.5. Сушіння полігідроксибутирату**

Останнім етапом виділення та очищення полігідроксибутирату є сушіння очищеного продукту. Для сушіння зазвичай використовують

розпилювальні сушарки, вакуум-сушильні шафи та ліофільні сушарки. Одразу можна зазначити що використання ліофільного способу сушіння в даному випадку є недоцільним так як даний полімер витримує звичні температури сушіння. З огляду на попередній етап очищення цільового продукту, отриманий продукт вже має тверду структуру тому використання розпилювальної сушарки неможливе так як великі частинки полігідроксибутирату не зможуть пройти крізь сопло розпилювальної сушарки. Отже оптимальним варіантом для сушіння полігідроксибутирату є використання вакуум сушильної шафи так як дана установка задовольняє необхідні вимоги та дозволить отримати продукт з необхідними характеристиками.

### **3.6. Технологічні особливості отримання пакетів з полігідроксибутирату**

Полігідроксибутират є перспективним біополімером завдяки його здатності до біологічного розкладання, біосумісності та сталого процесу виробництва. Незважаючи на те, що продаж гранул полігідроксибутирату є економічно вигідном, переробка їх у готову упаковку пропонує значні економічні переваги. Промислове виробництво упаковки полігідроксибутирату задовольняє зростаючий попит на екологічно чисте пакування, особливо в харчовій промисловості, де необхідні стійкі альтернативи пластику.

Виробництво упаковки забезпечує додану вартість сировині, підвищуючи прибутковість і створюючи конкурентну перевагу на ринку. Крім того, пропонуючи готовий до використання продукт, ми позбавляємо кінцевого споживача від необхідності переробки, роблячи рішення на основі полігідроксибутирату більш доступними та привабливими. Крім того, такий підхід дозволяє кастомізувати розміри, товщину та властивості упаковки, задовольняючи різноманітні потреби споживачів, одночасно підвищуючи універсальність і ринкову привабливість полігідроксибутирату. Розглянемо більш детально особливості виробництва упаковки з полігідроксибутирату.

На сьогодні наявна велика кількість досліджень спрямованих на покращення властивостей та зменшення вартості упаковки з полігідроксibuтирату, які передбачають внесення додаткових компонентів до полігідроксibuтирату з подальшим формуванням упаковки. Серед наявних на сьогодні статей доцільно обрати методику яка передбачає комбінування полігідроксibuтирату з крохмалем [63], яку було обрано при розрахунку потреби в цільовому продукті.

В даній статті зазначається що використання 70 % полігідроксibuтирату з 30 % термопластичного крохмалю позитивно впливає на кінцеві характеристики отриманої упаковки.

Термопластичний крохмаль можна одразу закупувати або приготувати, для визначення оптимального варіанту, розглянемо умовну вартість отриманого крохмалю приготованого власноруч та порівняємо її з ціною за якою можна його замовляти.

Для виробництва термопластичного крохмалю в статті [63], використовують крохмаль, воду та гліцерин в пропорціях 50:15:35, вода та гліцерин вносять по об'єму. Отже на 1 кг термопластиного крохмалю потрібно 500 г крохмалю, 150 мл води та 350 мл гліцерину (441 г). Розглянемо порівняння ціни термопластиного крохмалю, яка наведена в табл. 3.1.

## Порівняння вартості термопластичного крохмалю

|                                     | Компонент   | Кількість на 1 кг продукту, г | Ціна за 1 кг, грн | Вартість компоненту | Посилання |
|-------------------------------------|---|-------------------------------|-------------------|---------------------|-----------|
| Вироблений термопластичний крохмаль | Крохмаль  | 500                           | 17                | 8,5                 | 1         |
|                                     | Вода  | 150                           | -                 | -                   | -         |
|                                     | Гліцерин  | 441                           | 48                | 21,17               | 2         |
|                                     | Вартість виробленого термопластичного крохмалю - 29,67 грн/кг |                               |                   |                     |           |
| Закуплений термопластичний крохмаль | Вартість - 54 грн/кг  |                               |                   |                     | 3         |

**Примітка** - ціни вказані станом на листопад 2024 року

1. <https://megachem.com.ua/ua/krahmal-kukuruznyj.html>
2. <https://megachem.com.ua/ua/glicerin-distillirovannyj.html>
3. [https://www.alibaba.com/product-detail/PSM-thermoplastic-starch-for-injection-molding\\_1601168597625.html?spm=a2700.galleryofferlist.normal\\_offer.d\\_title.4f2d13a0N7dARq](https://www.alibaba.com/product-detail/PSM-thermoplastic-starch-for-injection-molding_1601168597625.html?spm=a2700.galleryofferlist.normal_offer.d_title.4f2d13a0N7dARq)

Розглянувши дані наведені в табл. 3.1., можна зробити висновок, що оптимальним варіантом буде виробництво термопластичного крохмалю власноруч на заводі, так як вартість в даному випадку становить майже в 1,8 рази менша в порівнянні з закупівлею готового термопластичного крохмалю, 29,67 грн/кг та 54 грн/кг, відповідно.

Отже, визначивши що термопластичний крохмаль доцільніше виробляти, для його виробництва необхідно в реактор внести крохмаль, воду питну та гліцерин, провести інтенсивне перемішування впродовж 30 хв та в подальшому нагрівати отриману субстанції при 100 °С впродовж 15 хв.

Для подальшого виробництва упаковки з отриманого термопластичного крохмалю та полігідроксibuтирату необхідно визначити яку форму пакування слід виробляти, в даному випадку існує два варіанти виробництва упаковки, перший передбачає виробництво готових пакетів, які в подальшому вже реалізують, та другий варіант який передбачає виробництво плівки на бабінах, які в подальшому вже використовуються на підприємствах в автоматичних пакувальних апаратах при пакуванні товару, роблячи з них

необхідного розміру упаковку. Враховуючи що розглянуті два варіанти передбачають різні кінцеві продукти, слід визначити який буде більш оптимальним.

Під час розрахунку річної потужності виробництва харчової біоупаковки, в якості потреби було обрано пакування продуктів, що швидко псуються, а саме пакування хлібобулочної продукції, враховуючи що виробництвом хлібобулочної продукції займаються як великі підприємства так і маленькі пекарні, доцільніше планувати виробництво упаковки на великі підприємства, так як дані підприємства забезпечують реалізацію майже 94 % хлібобулочної продукції в Україні [70]. Враховуючи великі об'єми виробленої продукції та різний асортимент даної продукції, на даних підприємствах використовується автоматичні пакувальні лінії, які дозволяють зменшити витрату часу на кінцеву упаковку продукту та зменшити витрати на закупівлю різних форм та розмірів упаковки. В автоматичних пакувальних лініях в більшості випадків використовують рулони з плівкою, яка в подальшому під час упаковки формується в упаковку необхідних розмірів, отже, доцільніше реалізовувати саме даний тип пакування.

Обравши кінцевий продукт, а саме рулони з плівкою, та визначившись з методом отримання термопластичного крохмалю, можна розглядати технологію виробництва даної плівки. В статті [63], для виробництва плівки використовують наступні етапи:

1. Змішування термопластичного крохмалю з полігідроксibuтиратом шляхом розчинення полігідроксibuтирату в хлороформі.
2. Розплавлення суміші
3. Розлив на поверхню отриманої рідини
4. Охолодження (вистигання продукту на розлитій поверхні)
5. Підрізання під необхідні розміри

Розглянувши наведені етапи виробництва плівки представлені в даній статті, можна зробити висновок що дана технологія не задовольняє наші потреби так як, для виробництва за даною технологією необхідно передбачити

великі площі поверхні на яких готова плівка охолоджуватиметься, а також дана технологія не є автоматизованою, тобто передбачає велику кількість ручної роботи. Тобто, можна зробити висновок що дана технологія підходить лише для лабораторних умов.

В статті [71] також досліджували методи покращення властивостей плівки, одна технологія виробництва плівки виглядала наступним чином:

1. Змішування компонентів
2. Розплавлення в екструдері
3. Лиття під тиском, для формування плівки

Дана технологія виконується за допомогою певних апаратів, в результаті чого вона може бути автоматизована та може підходити під необхідні промислові масштаби. Отже, дана технологія повністю задовольняє необхідні потреби для промислового виробництва, тому в подальшому процес виробництва плівки відбуватиметься за даною технологією.

Розглянувши обрану технологію, та переглядаючи апарати які забезпечують виконання даних процесів, можна відзначити що на сьогодні існують автоматизовані апарати які повністю виконують повний цикл виробництва плівки з суміші матеріалів, аж до процесу формування рулонів. Використання одного автоматизованого апарату який повністю забезпечить виконання усіх необхідних етапів є найбільш оптимальним варіантом так як зменшується кількість операцій та апаратів, в результаті чого зменшується кількість стадій що забезпечуватиме стабільну якість і мінімізуватиме ймовірність виникнення дефектів, оскільки всі процеси об'єднані і контролюються в рамках єдиної системи.

Підсумовуючи вище наведену інформацію, технологічний процес виробництва плівки з полігідроксibuтирату матиме наступні стадії:

1. Приготування термопластичного крохмалю;
2. Об'єднання компонентів плівки;
3. Виробництво плівки в автоматичному апараті.

**РОЗДІЛ 4. ПІДБІР ТЕХНОЛОГІЧНОГО ОБЛАДНАННЯ З  
ВРАХУВАННЯМ МАТЕРІАЛЬНИХ ПОТОКІВ ПО СТАДІЯХ ТА  
МАТЕРІАЛЬНИЙ БАЛАНС НА ПАРТІЮ ПЛІВКИ**

**4.1. Підбір технологічного обладнання**

Підбір технологічного обладнання для стадій виділення та очищення полігідроксibuтирату наведений в таблиці 4.1.

Вихідні дані:

Об'єм культуральної рідини за один цикл ферментації = 33,53 м<sup>3</sup>.

Концентрація цільового продукту у КР = 1,332 г/л

Концентрація біомаси в культуральній рідині = 3,6 г/л

Втрати (%) на стадіях виділення цільового продукту = 8 %:

$33,53 \text{ м}^3 \times 1,332 \text{ кг/м}^3 - 8 \% = 41,09 \text{ кг}$

|                  |             |                       |               |             |  |                    |             |                |
|------------------|-------------|-----------------------|---------------|-------------|--|--------------------|-------------|----------------|
|                  |             |                       |               |             | <b>НУХТ БТЕК 02.01.10 КР ПЗ</b>  |                    |             |                |
| <i>Змн.</i>      | <i>Лист</i> | <i>№ докум.</i>       | <i>Підпис</i> | <i>Дата</i> | РОЗДІЛ 4. Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіях | <i>Літ.</i>        | <i>Арк.</i> | <i>Аркушів</i> |
| <i>Розроб.</i>   |             | <i>Кравченко В.В.</i> |               |             |  |                    | 52          | 4              |
| <i>Перевір.</i>  |             | <i>Пирог Т.П.</i>     |               |             |  | <b>Кафедра БТМ</b> |             |                |
| <i>Реценз.</i>   |             |                       |               |             |  |                    |             |                |
| <i>Н. Контр.</i> |             |                       |               |             |  |                    |             |                |
| <i>Затверд.</i>  |             | <i>Стабніков В.П.</i> |               |             |  |                    |             |                |

## Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіях виділення та очищення ПГБ

| № п/п   | Назва стадії (операції)                  | Матеріальні потоки на стадії | Кількість по стадіях                                       |                     |                                  | Необхідне обладнання   |
|---|--|------------------------------|--|---------------------|----------------------------------|--|
|   |  |                              | Надійшло   | Втрати, (Разом 8 %) | Вийшло                           |  |
| 1   | 2  | 3                            | 4  | 5                   | 6                                | 7  |
| <b>ДР 1. Зберігання культуральної рідини</b>  |  |                              |  |                     |                                  |  |
| 1   | ДР 1.1. Зберігання культуральної рідини  | Культуральна рідина          | 33,53 м <sup>3</sup>                                       |                     | 33,53 м <sup>3</sup>             | Реактор об'ємом 35 м <sup>3</sup>                            |
| <b>ТП 2. Виділення біомаси</b>                |  |                              |  |                     |                                  |  |
| 2   | ТП 2.1 Фільтрування культуральної рідини | Культуральна рідина          | 33,53 м <sup>3</sup>                                       |                     |                                  | Мембранний фільтр прес продуктивністю 30 м <sup>3</sup> /год |
|   |  | Біомаса                      | 804,72 л<br>(33,53 м <sup>3</sup> * 3,6 / 0,15 )           | 24,14 л<br>(3%)     | 780,58 л<br>(804,72 л – 24,14 л) |  |
|   |  | Фільтрат                     | 32 726 л<br>(33,53 м <sup>3</sup> – 0,804 м <sup>3</sup> ) | -                   |                                  |  |
| <b>ТП 3. Виділення полігидроксипропіонату</b> |  |                              |  |                     |                                  |  |
| 3   | ТП 3.1 Екстракція хлороформом            | Біомаса                      | 780,58 л   |                     |                                  | Реактор об'ємом 10 м <sup>3</sup>                            |
|   |  | Хлороформ                    | 6 035 л<br>(50 мл × 1 г біомаси)                           |                     |                                  |  |
|   |  | Розчин                       | 6 815,58 л<br>(780,58 + 6 035)                             |                     | 6 815,58 л                       |  |
| 4   | ТП 3.2. Видалення клітинних залишків     | Розчин                       | 6 815,58 л   |                     |                                  | Мембранний фільтр прес продуктивністю 10 м <sup>3</sup> /год |
|   |  | Осад                         | 580,58 л   |                     |                                  |  |
|   |  | Фільтрат                     | 6 235 л<br>(6815,58 - 580,58)                              | 187 л<br>(3%)       | 6 048 л<br>(6 235 л – 187 л)     |  |

| <b>ТП 4. Концентрування</b>                 |  |                                      |                                  |                   |   |  |
|---|--|--------------------------------------|----------------------------------|-------------------|---|--|
| 5   | ТП 4.1. Концентрування фільтрату                   | Фільтрат                             | 6 048 л                          | -                 |   | Вакуум-випарна установка                                     |
|   |  | Випарений хлороформ                  | 5 443,2 л<br>(6 048 л – 604,8 л) |                   |   |  |
|   |  | Концентрат                           | 604,8 л<br>(6 048 / 10)          | 6 л<br>(1 %)      | 598,8 л<br>(604,8 л – 6 л)                    |  |
| <b>ТП 5. Осадження полігідроксибутирату</b> |  |                                      |                                  |                   |   |  |
| 6   | ТП 5.1. Осадження етанолом                         | Концентрат                           | 598,8 л                          |                   |   | Реактор об'ємом 10 м <sup>3</sup>                            |
|   |  | Етанол                               | 5 988 л<br>(598,8 л * 10)        |                   |   |  |
|   |  | Розчин                               | 6 586,8 л<br>(5 988 л + 598,8 л) |                   | 6 586,8 л                                     |  |
| 7   | ТП 5.2. Виділення осаджених гранул                 | Розчин                               | 6 586,8 л                        |                   |   | Мембранний фільтр прес продуктивністю 10 м <sup>3</sup> /год |
|   |  | Фільтрат                             | 6 290 л<br>(6 586,8 л - 296,8 л) |                   |   |  |
|   |  | Осажені гранули полігідроксибутирату | 296,8 л                          | 8,8 л<br>(3%)     | 288 л<br>(296,8 л – 8,8 л)                    |  |
| <b>ТП 6. Сушіння</b>                        |  |                                      |                                  |                   |   |  |
| 8   | ТП 6.1. Сушіння гранул полігідроксибутирату        | Осажені гранули полігідроксибутирату | 288 л                            |                   |   | Вакуум-сушильна шафа   |
|   |  | Висушений полігідроксибутират        | 43,2 кг<br>(288 л – 85%)         | 1,7<br>(4 %)      | 41,5 кг<br>(43,2 – 1,7)                       |  |
| <b>ПМВ 7. Пакування та маркування</b>       |  |                                      |                                  |                   |   |  |
| 9   | ПМВ 7.1. Фасування висушеного полігідроксибутирату | Висушений полігідроксибутират        | 41,5 кг                          |                   |   | Фасувально-пакувальна машина                                 |
|   |  | Поліетиленові пакети 500 г           | 83 пакета<br>(41,5 кг / 0,5)     |                   |   |  |
|   |  | Металева тара об'ємом 0,54 л         | 83 банки                         |                   |   |  |
|   |  | Фасований полігідроксибутират        |                                  | 0,415 кг<br>(1 %) | 82,17 = 82 упаковки<br>((41,5 – 0,415) / 0,5) |  |

#### 4.2. Матеріальний баланс на партію плівки з полігідроксibuтирату

Матеріальний баланс на партію плівки з полігідроксibuтирату наведено в табл.4.2.

Таблиця 4.2

#### Матеріальний баланс на партію плівки

| Завантажено за цикл                                     |                          |        | Одержано за цикл |                          |        |
|---|--------------------------|--------|------------------|--------------------------|--------|
| <i>1. Стадія приготування термопластичного крохмалю</i> |                          |        |                  |                          |        |
| №   | Компонент                | кг     | №                | Компонент                | кг     |
| 1   | Крохмаль                 | 8,81   | 1                | Термопластичний крохмаль | 17,61  |
| 2   | Вода питна               | 2,643  |                  |                          |        |
| 3   | Гліцерин                 | 6,166  |                  |                          |        |
| 4   | Втрати, %                | 0,05   | 2                | Втрати                   | 0,009  |
| <b>Разом</b>  |                          | 17,619 | <b>Разом</b>     |                          | 17,619 |
| <i>2. Стадія приготування композиції для плівки</i>     |                          |        |                  |                          |        |
| 1   | Термопластичний крохмаль | 17,61  | 1                | Об'єднана суміш          | 58,67  |
| 2   | Полігідроксibuтират      | 41,09  |                  |                          |        |
| 3   | Втрати, %                | 0,05   | 2                | Втрати, кг               | 0,03   |
| <b>Разом</b>  |                          | 6,636  | <b>Разом</b>     |                          | 58,7   |
| <i>3. Стадія виробництво рулонів плівки</i>             |                          |        |                  |                          |        |
| 1   | Об'єднана суміш          | 58,67  | 1                | Рулони з плівкою         | 63,14  |
| 2   | Рулони для плівки        | 4,5    | 2                |                          |        |
| 3   | Втрати                   | 0,05   | 3                | Втрати                   | 0,03   |
| <b>Разом</b>  |                          | 63,17  | <b>Разом</b>     |                          | 63,17  |

**РОЗДІЛ 5. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ ДЛЯ ОТРИМАННЯ  
ПЛІВКИ З ПОЛІГІДРОКСИБУТИРАТУ**

Таблиця 5.1

**Специфікація ділянки одержання полігидроксibuтирату**

| Позиція                    | Найменування           | Кількість | Технічна характеристика (виробник)  |
|----------------------------|------------------------|-----------|---|
| З-1                        | Збірник                | 1         | Збірник з нержавіючої сталі, об'ємом 35 м <sup>3</sup> , оснащений мішалкою, габаритні розміри 2000 x 2000 x 14130 мм [72]  |
| Н-2                        | Насос                  | 1         | Насос відцентровий NF 130В, з продуктивністю 72 м <sup>3</sup> /год [73]  |
| МФП-3                      | Мембранний фільтр прес | 1         | Мембранний фільтр прес, з прощою фільтрування 321 м <sup>3</sup> , продуктивністю 30 м <sup>3</sup> /год, допустимий тиск 15 бар, габаритні розміри 10000 x 2000 x 2000 мм [74] |
| Д-4<br>Д-12                | Дозатор                | 2         | Дозатор рідин, робочий тиск від 0,5 атм до 10 атм, похибка дозування не більш ніж 0,5%, межі дозування від 10 мл до 10 м <sup>3</sup> . [75]                                    |
| Р-5<br>Р-13                | Реактор                | 2         | Реактор JBJ -10000, з нержавіючої сталі, об'ємом 10 м <sup>3</sup> , оснащений мішалкою (0-60 об/хв), габаритні розміри 2100 x 1700 x 1800 мм [76]                              |
| Н-6<br>Н-9<br>Н-11<br>Н-14 | Насос                  | 3         | Насос відцентровий SAER OP-40/3, з продуктивністю 14 м <sup>3</sup> /год [77]   |
| МФП-7                      | Мембранний фільтр прес | 1         | Мембранний фільтр прес ВМУ40630-30U, з прощою фільтрування 40 м <sup>2</sup> , продуктивністю 10 м <sup>3</sup> /год, допустимий тиск 15 бар [78]                               |
| З-8                        | Збірник                | 1         | Збірник з нержавіючої сталі RURALINOX об'ємом 7 м <sup>3</sup> , з діаметром 1900 мм та висотою 3100 мм [79].   |

|           |      |                |        |      |  |             |      |         |
|-----------|------|----------------|--------|------|--|-------------|------|---------|
|           |      |                |        |      | НУХТ БТЕК 02.01.10 КР ПЗ   |             |      |         |
| Змн.      | Лист | № докум.       | Підпис | Дата |  |             |      |         |
| Розроб.   |      | Кравченко В.В. |        |      | РОЗДІЛ 5. Специфікація<br>обладнання для отримання<br>полігидроксibuтирату | Літ.        | Арк. | Аркушів |
| Перевір.  |      | Пирог Т.П.     |        |      |  |             | 56   | 2       |
| Реценз.   |      |                |        |      |  | Кафедра БТМ |      |         |
| Н. Контр. |      |                |        |      |  |             |      |         |
| Затверд.  |      | Стабніков В.П. |        |      |  |             |      |         |

Закінчення таблиці 5.1

|        |                          |   |   |
|--------|--------------------------|---|---|
| В-10   | Вакуум-випарна установка | 1 | Вакуум-випарна установка ВВУ-50 з продуктивністю по випареній волозі 1,6 т/год, габаритні розміри 7500 x 3800 x 6500 мм [80]  |
| ВСШ-15 | Вакуум-сушильна шафа     | 1 | Шафа сушильна вакуумна СВ-300, з робочим об'ємом 221 л, максимальна температура 200 °С, габаритні розміри 690 x 1090 x 980 мм [81]  |
| П-16   | Пересувна ємність        | 1 | Пересувна ємність, виготовлена з нержавіючої сталі об'ємом 50 л, оснащена коліщатами [82].  |
| Р-17   | Реактор                  | 1 | Реактор LSR-20L з нержавіючої сталі, об'ємом 20 л, оснащений мішалкою (0-460 об/хв), габаритні розміри 500 x 500 x 1850 мм [83]   |
| ЗМ-18  | Змішувач                 | 1 | V-подібний змішувач, об'ємом 100 л, максимальне завантаження 90 кг, потужність привода 1,1 кВт + 3 кВт [84]   |
| П-19   | Пересувна ємність        | 1 | Пересувна ємність, виготовлена з нержавіючої сталі об'ємом 100 л, оснащена коліщатами [85].   |
| ЛВП-20 | Лінія виробництва плівки | 1 | Екструдер для роздувної плівки VELOBLOW 65, продуктивність по виробленій плівці 100 кг/год, ширина отримуваної плівки від 300 до 600 мм, товщина плівки від 10 до 50 мкм [86] |

## РОЗДІЛ 6. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ПІСЛЯФЕРМЕНТАЦІЙНОГО ВИДІЛЕННЯ ТА ОЧИЩЕННЯ ПОЛІГІДРОКСИБУТИРАТУ ТА ВИРОБНИЦТВА ПЛІВКИ

Процес післяферментаційного виділення та очищення полігидроксibuтирату та подальше виробництво плівки передбачає наявність допоміжних етапів (зберігання культуральної рідини та підготовка крохмалю), технологічного процесу (виділення біомаси, виділення полігидроксibuтирату, концентрування, осадження полігидроксibuтирату та сушіння) а також пакування та маркування готового продукту. Технологічне та апаратурне зображення процесу виділення та очищення полігидроксibuтирату наведено в графічній частині проекту.

### *ДР 1. Зберігання культуральної рідини*

#### *ДР 1.1. Зберігання культуральної рідини*

Культуральна рідина після виробничої ферментації направляється в збірник об'ємом 35 м<sup>3</sup> (З-1), де відбувається її зберігання при температурі 4 °С до використання на післяферментаційних стадіях.

### *ДР 2. Підготовка крохмалю*

#### *ДР 2.1. Приготування термопластичного крохмалю*

В реактор об'ємом 20 л (Р-17) вносять 8,81 кг крохмалю, зваженого на технологічних вагах, та через лічильник подають 2,643 л води питної та 4,9 л гліцерину. Завантаживши компоненти, в реакторі вмикають перемішуючий пристрій 200 об/хв та проводять перемішування впродовж 30 хв, для рівномірного розподілу компонентів. В подальшому в сорочку реактора подають гостру пару для нагрівання вмісту реактора до 100 °С, та витримують суміш при заданому температурному режимі впродовж 15 хв. По завершенню витримання при заданій температурі, вміст реактора

|           |      |                |        |      |   |             |      |         |
|-----------|------|----------------|--------|------|---|-------------|------|---------|
|           |      |                |        |      | НУХТ БТЕК 02.01.10 КР ПЗ  |             |      |         |
| Змн.      | Лист | № докум.       | Підпис | Дата |   |             |      |         |
| Розроб.   |      | Кравченко В.В. |        |      | РОЗДІЛ 6. Опис технологічної<br>схеми післяферментаційного<br>виділення та очищення<br>полігидроксibuтирату | Літ.        | Арк. | Аркушів |
| Перевір.  |      | Пирог Т.П.     |        |      |   |             | 58   | 4       |
| Реценз.   |      |                |        |      |   | Кафедра БТМ |      |         |
| Н. Контр. |      |                |        |      |   |             |      |         |
| Затверд.  |      | Стабніков В.П. |        |      |   |             |      |         |

залишають охолоджуватись до кімнатної температури, та зберігають в даному реакторі до подальшого використання.

### ***ТП 3. Виділення біомаси***

#### ***ТП 3.1. Фільтрування культуральної рідини***

Культуральна рідина з збірника (З-1) за допомогою відцентрового насоса (Н-2) направляється в мембранний фільтр прес (МФП-3), де відбувається процес фільтрування при 0,15 МПа. Після фільтрування отриманий фільтрат направляють на знешкодження, а осад поміщають в реактор об'ємом 10 м<sup>3</sup> (Р-5), де відбувається зберігання до використання на наступних стадіях виділення.

### ***ТП 4. Виділення полігидроксибутирату***

#### ***ТП 4.1. Екстракція хлороформом***

До осаду об'ємом 780,6 л в реактор (Р-5) за допомогою дозатора (Д-4) вносять 6 035 л хлороформу. Додавши хлороформ в реактор вмикають перемішуючий пристрій, 50 об/хв, та нагрівають розчин до 60 °С та витримують дану температуру впродовж 2 год. По завершенню часу вимикають перемішуючий пристрій та направляють отриманий розчин на наступну стадію.

#### ***ТП 4.2. Видалення клітинних залишків***

Розчин (від ТП 4.1.) за допомогою відцентрового насоса (Н-6) направляють в мембранний фільтр прес (МФП-7), де відбувається процес фільтрування при 0,15 МПа. Після фільтрування отриманий осад направляють на знешкодження, а фільтрат направляють в збірник об'ємом 7 м<sup>3</sup> (З-8) де відбувається зберігання до використання на наступній стадії очищення полігидроксибутирату.

### ***ТП 5. Концентрування***

#### ***ТП 5.1. Концентрування фільтрату***

Фільтрат об'ємом 6 048 л з збірника (З-8) за допомогою відцентрового насоса (Н-9) направляють в вакуум-випарну установку (В-10) де відбувається концентрування розчину в 10 разів при температурі 62 °С. Випарений

хлороформ в подальшому направляються на відновлення, а отриманий концентрат за допомогою відцентрового насоса (Н-11) направляють в реактор об'ємом 10 м<sup>3</sup> (Р-13), де відбувається його зберігання до подальшого використання.

### ***ТП 6. Осадження полігідроксибутирату***

#### ***ТП 6.1. Осадження етанолом***

В реактор (Р-13) з 598,8 л концентрату за допомогою дозатора (Д-12) вносять 5 988 л етанолу. Після внесення спирту в реактор, в ньому вмикають перемішуючий пристрій 50 об/хв, процес перемішування проводять впродовж 1 год. В подальшому отриманий розчин направляють на наступні стадії очищення.

#### ***ТП 6.2. Виділення осаджених гранул***

Отриманий розчин (від ТП 6.1) за допомогою відцентрового насоса (Н-14) направляють в мембранний фільтр прес (МФП-7), де відбувається процес фільтрування при 0,15 МПа. Після фільтрування отриманий фільтрат направляють на відновлення, а осад у вигляді гранул направляють на наступну стадію.

### ***ТП 7. Сушіння***

#### ***ТП 7.1. Сушіння гранул полігідроксибутирату***

Отримані гранули об'ємом 288 л (від ТП 6.2) вручну завантажують на полицки вакуум-сушильної шафи, після завантаження усього продукту, вакуум-сушильну шафу закривають та проводять сушіння при 120 °С до вмісту вологи продукту 10 %. По завершенню процесу висушені гранули переміщують в пересувну ємність (П-16).

### ***ТП 8. Виробництво плівки***

#### ***ТП 8.1. Приготування композиції для плівки***

В змішувач сипучих речовин об'ємом 100 л (ЗМ-18) вносять наважки термопластичного крохмалю масою 17,61 кг (від ДР 2.1) та полігідроксибутирату – 41,09 кг (від ТП 7.1), зважених на технічних вагах. Завантаживши компоненти в змішувач, проводять інтенсивне перемішування

при 20 об/хв впродовж 60 хв. По завершенню процесу, отриману суміш переміщують в пересувну тару об'ємом 100 л (П-19) де відбувається зберігання до подальшого використання.

### ***ТП 8.2. Виробництво рулонів плівки***

Об'єднані компоненти (*від ТП 8.1*) подаються в бункер автоматичної лінії виробництва плівки (ЛВП-20), яка розплавляє суміш роблячи з нього однорідний матеріал (при температурі 160 °С) в подальшому формує тонку плівку та охолоджує її (на охолоджених роликах до температури 20 °С). Охолоджена плівка за допомогою роликів направляється далі по конвеєру де відбувається намотування її в рулон. Отриманий рулон направляють на подальшу стадію

### ***ПМВ 9. Пакування та маркування плівки***

#### ***ПМВ 9.1. Пакування та маркування рулонів плівки***

Отриманий рулон плівки (*від ТП 8.2*) вручну загортають в чорну стреч-плівку, на стреч плівку наносять наліпку з назвою продукту, серією, номером та датою виробництва. Повністю загорнутий в стреч-плівку рулон поміщають в картонну коробку та направляють на склад, де відбувається зберігання до подальшого використання.

## РОЗДІЛ 7. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА ПОЛІГІДРОКСИБУТИРАТУ

### 7.1. Методи контролю виробництва субстанції полігидроксибутирату

Очищений полігидроксибутират перевіряють за наступними показниками: опис, ідентифікація, втрата маси при висушуванні та кількісне визначення, узагальнені показники якості полігидроксибутирату наведено в таблиці 7.1.

Таблиця 7.1

#### Контроль якості полігидроксибутирату

| <i>Показник якості</i>      | <i>Нормативне значення</i>   |
|-----------------------------|--|
| Опис                        | Гранули білого кольору з глянцевою поверхнею   |
| Ідентифікація               | Час утримання розчину зразка має відповідати часу утримання <i>стандартного розчину</i> , що використовується у випробуванні<br><b>Кількісне визначення.</b> |
| Втрата маси при висушуванні | Не більше 5 %  |
| Кількісне визначення        | Вміст полігидроксибутирату має бути в межах 99,0–100,0 %   |

#### Методи контролю

##### 1. Опис

Гранули білого кольору, іноді може бути прозорим та має глянцеvu поверхню. Визначають візуально.

##### 2. Ідентифікація

Ідентифікацію полігидроксибутирату проводять за часом утримання розчину зразка, який має узгоджуватись з часом утримання *стандартного розчину*, що використовується під час випробування на **кількісне визначення**.

| Змн.      | Лист | № докум.       | Підпис | Дата | НОУХТ БТЕК 02.01.10 КР ПЗ                                 |             |      |         |
|-----------|------|----------------|--------|------|---|-------------|------|---------|
| Розроб.   |      | Кравченко В.В. |        |      | РОЗДІЛ 7. Контроль<br>виробництва<br>полігидроксибутирату | Літ.        | Арк. | Аркушів |
| Перевір.  |      | Пирог Т.П.     |        |      |   |             | 62   | 6       |
| Реценз.   |      |                |        |      |   | Кафедра БТМ |      |         |
| Н. Контр. |      |                |        |      |   |             |      |         |
| Затверд.  |      | Стабніков В.П. |        |      |   |             |      |         |

### **3. Втрата маси при висушуванні**

Наважку полігідроксибутирату масою 1 г поміщають в попередньо висушений зважений бюкс і висушують в ексікаторі над фосфор(V) оксидом у вакуумі (1,5-2,5 кПа) за температури 100 °С до постійної маси. Втрата маси при висушуванні не має перевищувати 5 %

### **4. Кількісне визначення**

Кількісний аналіз вмісту полігідроксибутирату проводили методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) [64].

Метод високоефективної рідинної хроматографії ґрунтується на розподілі компонентів суміші між двома фазами: рухомою (рідкою) та нерухомою (твердою) [87].

Наважку отриманого полігідроксибутирату масою 1 мг кип'ятили з 1 мл концентрованої сірчаної кислоти ( $H_2SO_4$ ) при температурі 100 °С протягом однієї години для перетворення полігідроксибутирату в кротонову кислоту. Після цього зразки охолоджували до кімнатної температури і розбавляли в 20 разів, використовуючи 0,014 М  $H_2SO_4$ .

Для подальшого аналізу використовували високоефективну систему рідинної хроматографії (Thermo-Fischer Scientific, США) з колонкою Nucleosil C8 (Macherey-Nagel, Німеччина) ізократичним методом. Рухома фаза складалася з 20 мМ буфера  $NaH_2PO_4$  (рН 2,5) та ацетонітрилу у співвідношенні 70:30 з витратою 0,85 мл/хв і температурою колонки 30 °С. Детектування кротонової кислоти проводили за допомогою діодно-матричного детектора на довжині хвилі 210 нм.

Для калібрування використовували чистий полігідроксибутират, який обробляли аналогічним чином і аналізували паралельно зі зразками.

### **7.2 Контроль виробництва біоупаковки на основі полігідроксибутирату**

Отриману плівку перевіряють за наступними показниками: температура плавлення, температура склування, термічна стабільність, міцність на розрив, подовження при розриві, узагальнені показники якості полігідроксибутирату наведено в таблиці 7.2.

**Контроль якості плівки з полігидроксибутирату**

| <i>Показник якості</i> | <i>Нормативне значення</i> |
|------------------------|----------------------------|
| Температура плавлення  | Не менше 167 °С            |
| Температура склування  | Не менше 71,3 °С           |
| Термічна стабільність  | Не менше 260°С             |
| Міцність на розрив     | Не менше 32 МПа            |
| Подовження при розриві | Не менше 11,7 %            |

**Методи контролю****1. Визначення температури плавлення і температури склування**

Температуру плавлення і температуру склування зразку виробленої плівки визначали за допомогою диференціальної скануючої калориметрії (ДСК). Приблизно 3,5 мг зразка поміщають в алюмінієвий посуд та нагрівають в апараті ДСК. Аналіз проводять в атмосфері азоту з потоком газу 20 мл/хв. Температуру підвищують від -10°С до 200°С зі швидкістю нагрівання 10 °С/хв. Температуру склування визначають як точку перегину на кривій ДСК між початком і кінцем перехідної області. Температуру плавлення визначають як пікову температуру ендотермічної події, що спостерігається на ДСК-кривій. Досліджувані показники повинні відповідати наступним параметрам, температура плавлення – 167 °С, температура склування – 71,3 °С [88, 63].

**2. Визначення термічної стабільності**

Термостабільність плівки оцінюють за допомогою термогравіметричного аналізу [88]. Зразок плівки масою 5 мг поміщають в платиновий тигель і нагрівають в термогравіметричному аналізаторі в атмосфері азоту зі швидкістю потоку газу 40 мл/хв. Зразок нагрівають від 30°С до 600°С зі швидкістю 10°С/хв. Температура, при якій плівка втрачає 5% або 10% своєї ваги, фіксується як показник температури термічної деградації. Плівка повинна демонструвати мінімальну втрату ваги за типових умов обробки, при температурі термодеградації вище 260°С [63].

### **3. Визначення міцності на розрив**

Міцність плівки на розрив вимірювали за стандартним методом ASTM D638 для визначення властивостей пластмас на розрив [89]. Зразок плівки розрізають на зразки у формі гантелей. Випробування на розтягнення проводять на універсальній розривній машині з постійною швидкістю розтягування 5 мм/хв. Максимальне напруження при розтягуванні реєструють в точці розриву зразка плівки. Вимірювання повторюють щонайменше для п'яти зразків і розраховують середнє значення межі міцності на розрив. Межа міцності на розрив зразка повинна відповідати 30-50 МПа.

### **4. Визначення подовження при розриві (подовження, необхідне для розриву)**

Подовження при розриві плівки вимірюють на універсальній розривній машині, відповідно до стандарту ASTM D638 [89]. Зразки плівки випробовують зі швидкістю розтягування 5 мм/хв, а подовження вимірюють як відсоток збільшення довжини зразка від початкової довжини до моменту розриву. Подовження при розриві реєструють щонайменше для п'яти зразків для отримання середнього значення. Показник повинен становити не менше 11,7 % [63].

### **7.3. Карта постадійного контролю виробництва плівки**

Карта постадійного контроль післяферментаційного виділення та очищення полігідроксibuтирату та подальшого виробництва плівки з нього наведена в табл. 7.3.

## Карта постадійного контролю одержання полігидроксibuтирату

| Номер контрольної точки та назва стадії           | Об'єкт контролю та показник, що визначається      | Засоби та методи контролю     | Періодичність перевірки та відбору проб               | Нормативні значення показника  |
|---|---|-------------------------------|---|--|
| 1   | 2   | 3                             | 4   | 5  |
| <b>ДР 1. Зберігання культуральної рідини</b>      |   |                               |   |  |
| Кт 1.1.<br>Зберігання культуральної рідини        | Культуральна рідина.<br>Температура               | Термометр                     | Температура контролюється автоматично                 | $T = 20\text{ }^{\circ}\text{C}$   |
| <b>ДР 2. Підготовка крохмалю</b>                  |   |                               |   |  |
| КТ 2.1.<br>Приготування термопластичного крохмалю | Частота обертання час та температура              | Тахометр, годинник, термометр | Під час провєлення процесу                            | $n = 200\text{ об/хв,}$<br>$t = 30\text{ хв,}$<br>$T = 100\text{ }^{\circ}\text{C,}$<br>$t = 15\text{ хв}$ |
| <b>ТП 3. Відділення біомаси</b>                   |   |                               |   |  |
| Кт 3.1.<br>Фільтрування культуральної рідини      | Культуральна рідина. Тиск.                        | Манометр                      | Під час процесу фільтрування                          | $P = 0,15\text{ МПа}$  |
| <b>ТП 4. Виділення полігидроксibuтирату</b>       |   |                               |   |  |
| Кт 4.1.<br>Екстракція хлороформом                 | Біомаса.<br>Частота обертання, час та температура | Тахометр, годинник, термометр | Всі показники визначаються під час процесу екстракції | $n = 50\text{ об/хв,}$<br>$t = 2\text{ год,}$<br>$T = 60\text{ }^{\circ}\text{C}$                          |
| Кт 4.2.<br>Видалення клітинних залишків           | Тиск  | Манометр                      | Під час процесу видалення                             | $P = 0,15\text{ МПа}$  |
| <b>ТП 5. Концентрування</b>                       |   |                               |   |  |
| Кт 5.1.<br>Концентрування фільтрату               | Концентрат.<br>Температура                        | Термометр                     | Під час процесу концентрування                        | $T = 62\text{ }^{\circ}\text{C}$   |

| <b>ТП 6. Осадження полігідроксибутирату</b>                |  |                                      |   |   |
|--|--|--------------------------------------|---|---|
| Кт 6.1.<br>Осадження етанолом                              | Концентрат<br>Частота обертання<br>та час                      | Тахометр,<br>годинник                | Всі показники<br>визначаються<br>під час процесу<br>осадження                                 | n = 50 об/хв,<br>t = 1 год  |
| Кт 6.2.<br>Виділення осаджених<br>гранул                   | Тиск   | Манометр                             | Під час процесу<br>виділення  | P = 0,15 МПа  |
| <b>ТП 7. Сушіння</b>                                       |  |                                      |   |   |
| Кт 7.1.<br>Сушіння гранул<br>полігідроксибутирату          | Гранули<br>полігідроксибутирату.<br>Температура,<br>вологість. | Термометр<br>технічний,<br>вологомір | Температура<br>контролюється<br>під час процесу,<br>вологість<br>перевіряють<br>після процесу | t = 120 °С,<br>W = 10%  |
| <b>ТП 8. Пакування та маркування</b>                       |  |                                      |   |   |
| Кт 8.1.<br>Приготування<br>композиції для<br>плівки        | Частота обертання<br>час                                       | Тахометр,<br>годинник                | Під час<br>проведення<br>процесу  | n = 20 об/хв,<br>t = 60 хв  |
| Кт 8.2.<br>Виробництво рулонів<br>плівки                   | Температура  | Термометр                            | Під час процесу<br>концентрування   | T = 160 °С<br>T = 20 °С   |
| <b>ПМВ 9. Пакування та маркування плівки</b>               |  |                                      |   |   |
| Кт 9.1.<br>Фасування<br>висушеного<br>полігідроксибутирату | Рулони плівки.<br>Вага. Правильність<br>маркування.            | Ваги                                 | Точність<br>маркування<br>контролюється<br>після нанесення<br>маркування.                     | Відсутність<br>механічних<br>пошкоджень.<br>Точність<br>маркування. |

## РОЗДІЛ 8. ПРОЄКТ ЗАЯВКИ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ. БІОУПАКОВКА НА ОСНОВІ ПОЛІГІДРОКСИБУТИРАТУ

### 8.1. Галузь і застосування корисної моделі

Запропонований спосіб може бути використаний для комерційного виробництва біорозкладних пластиків у харчовій, медичній, сільськогосподарській та інших галузях промисловості, де необхідні екологічно чисті матеріали.

Полігидроксибутират (PHB) є біорозкладним полімером, який може використовуватися як заміна для синтетичних пластиків. Отримання PHB за допомогою мікроорганізмів є екологічно безпечним методом, який має переваги перед традиційними хімічними методами синтезу. Ціанобактерії, як автотрофні організми, здатні фіксувати вуглекислий газ і виробляти PHB, що робить їх перспективними мікроорганізмами для біотехнологічних застосувань.

### 8.2. Відомі аналоги та їх основні недоліки

Полігидроксибутират (ПГБ) – це біополімер, який є біорозкладним пластиком, що виробляється з відновлюваних ресурсів. Ось декілька відомих аналогів полігидроксибутирату та їх основні недоліки:

Полілактидна кислота (ПЛА):

Недоліки:

Відносно низька термостійкість, що обмежує її використання при високих температурах.

Вимагає промислових умов для компостування, що може бути недоступним у деяких регіонах.

|           |      |                |        |      | НУХТ БТЕК 02.01.10 КР ПЗ   |             |      |         |
|-----------|------|----------------|--------|------|--|-------------|------|---------|
| Змн.      | Лист | № докум.       | Підпис | Дата |  |             |      |         |
| Розроб.   |      | Кравченко В.В. |        |      | РОЗДІЛ 8. Проект заявки на<br>корисну модель. Біоупаковки<br>на основі<br>полігидроксибутирату | Літ.        | Арк. | Аркушів |
| Перевір.  |      | Пирог Т.П.     |        |      |  |             | 68   | 4       |
| Реценз.   |      |                |        |      |  | Кафедра БТМ |      |         |
| Н. Контр. |      |                |        |      |  |             |      |         |
| Затверд.  |      | Стабніков В.П. |        |      |  |             |      |         |

Полікапролактон (ПКА):

Недоліки:

Висока вартість виробництва порівняно з традиційними пластиками.

Порівняно низька міцність та жорсткість, що обмежує його застосування в деяких галузях.

Полі(гідроксиалканоати) (ПГА):

Недоліки:

Висока вартість виробництва через складні технологічні процеси.

Обмежена механічна міцність і стабільність у порівнянні з традиційними пластиками.

Термопластичний крохмаль (ТПК):

Недоліки:

Схильність до вбирання вологи, що може призводити до зміни властивостей матеріалу.

Порівняно низька міцність і стабільність.

Кожен з цих матеріалів має свої переваги та недоліки, і їх вибір залежить від конкретних вимог та умов використання. Основні виклики, пов'язані з біополімерами, включають їх високу вартість, обмежену міцність і необхідність специфічних умов для біорозкладання.

### **8.3. Постановка задачі корисної моделі та її вирішення**

Запропонований спосіб включає наступні етапи:

Вибір штамів ціанобактерій, здатних до синтезу РНВ.

Культивування обраних штамів у спеціально підібраному живильному середовищі.

Індукція біосинтезу РНВ шляхом створення стресових умов, таких як обмеження азоту або фосфору.

Відокремлення та очищення отриманого РНВ.

### **8.4. Опис запропонованого способу**

Вибір штамів ціанобактерій:

Використовуються штами ціанобактерій, які демонструють високу продуктивність РНВ, наприклад, *Synechocystis* sp. PCC 6803, *Anabaena* sp., або інші штами, які мають відповідні генетичні модифікації для підвищеного виробництва РНВ.

Культивування:

Культивування здійснюється у фотобіореакторах з контрольованим освітленням та аерацією. Живильне середовище містить основні елементи живлення, такі як вуглець, азот, фосфор та інші мікроелементи, необхідні для росту ціанобактерій.

Індукція біосинтезу РНВ:

Після досягнення необхідної біомаси, у живильне середовище вводять обмеження на азот або фосфор. Це створює стресові умови, які стимулюють синтез РНВ у клітинах ціанобактерій.

Відокремлення та очищення РНВ:

Після культивування та індукції біосинтезу РНВ, клітини ціанобактерій збираються шляхом центрифугування або фільтрації. Далі, РНВ екстрагується з клітин за допомогою хімічних або фізичних методів, таких як використання розчинників або механічне руйнування клітинної стінки. Очищений РНВ осаджується і сушиться для отримання кінцевого продукту.

### **8.5. Формула корисної моделі**

Використання ціанобактерій як продуцентів РНВ дозволяє використовувати вуглекислий газ як єдине джерело вуглецю, що робить процес екологічно безпечним.

Метод забезпечує високу продуктивність РНВ при низьких витратах на живильні середовища.

Біосинтез РНВ за допомогою ціанобактерій може проводитися на великих масштабах у фотобіореакторах.

### **8.6. Реферат**

Назва винаходу:

Спосіб отримання полігідроксибутирату з використанням ціанобактерій

Технічна область:

Винахід належить до галузі біотехнології і стосується способів біосинтезу біополімерів, зокрема полігідроксибутирату (PHB), із застосуванням ціанобактерій

Передумови винаходу:

Полігідроксибутират (PHB) є біорозкладним полімером, що може замінити синтетичні пластики. Біосинтез PHB з використанням мікроорганізмів є екологічно безпечним методом, який має переваги перед традиційними хімічними методами синтезу. Ціанобактерії, як автотрофні організми, здатні фіксувати вуглекислий газ і виробляти PHB, що робить їх перспективними для біотехнологічних застосувань.

Сутність винаходу:

Запропонований спосіб включає наступні етапи:

Вибір штамів ціанобактерій, здатних до синтезу PHB.

Культивування обраних штамів у спеціально підібраному живильному середовищі.

Індукція біосинтезу PHB шляхом створення стресових умов, таких як обмеження азоту або фосфору.

Відокремлення та очищення отриманого PHB.

## ВИСНОВКИ

В ході огляду наукових праць було досліджено особливості біотехнології фототрофних мікроорганізмів для синтезу вуглецевих метаболітів, зокрема полігидроксибутирату та глікогену. Особливу увагу було приділено полігидроксибутирату з детальним розглядом його потенційних застосувань.

З розглянутих літературних джерел, було проведено вибір продуцента полігидроксибутирату, в ході якого було обрано *Synechocystis* sp. PCC 6714/MT\_a24, через найменшу умовну вартість синтезованого продукту та найбільш кількість синтезованого продукту за годину, який здатний накопичувати 1,332 г/л полігидроксибутирату.

Визначивши цільову потребу в полігидроксибутираті, а саме використання його в пакувальній промисловості для продуктів нетривалого зберігання, було проведено розрахунок річної потужності виробництва, яка становила 531,1 кг.

Проведено вибір етапів виділення та очищення полігидроксибутирату після ферментаційного культивування, а також підбрано технологію виробництва рулонів плівки з очищеного продукту. Технологія виділення та очищення передбачає виділення біомаси фільтруванням, подальша екстракція хлороформом та виділення отриманого осаду фільтруванням, концентрування фільтрату, осадження полігидроксибутирату етанолом та сушіння, а технологія виготовлення плівки – приготування термопластичного крохмалю, приготування композиції для плівки, шляхом змішування термопластичного крохмалю з отриманим полігидроксибутиратом та виробництво рулонів плівки. На основі обраних етапів розроблено технологічну схему процесу, яка наведена в графічній частині роботи.

|           |      |                |        |      |                          |             |      |         |
|-----------|------|----------------|--------|------|--------------------------|-------------|------|---------|
|           |      |                |        |      | НУХТ БТЕК 02.01.10 КР ПЗ |             |      |         |
| Змн.      | Лист | № докум.       | Підпис | Дата |                          |             |      |         |
| Розроб.   |      | Кравченко В.В. |        |      | Висновки                 | Літ.        | Арк. | Аркушів |
| Перевір.  |      | Пирог Т.П.     |        |      |                          |             | 72   | 2       |
| Реценз.   |      |                |        |      |                          | Кафедра БТМ |      |         |
| Н. Контр. |      |                |        |      |                          |             |      |         |
| Затверд.  |      | Стабніков В.П. |        |      |                          |             |      |         |

Підібрано необхідні методи контролю отриманого полігидроксибутирату та виробленої плівки, а також розроблено карту постадійного контролю на весь технологічний процес.

Проведено розрахунок матеріальних потоків для стадій виробництва, а також в подальшому за розрахованими значеннями підібрано відповідне обладнання на весь технологічний процес, яке представлено на апаратурній схемі в графічній частині роботи.

Сформовано патентну заявку на корисну модель біоупаковки на основі полігидроксибутирату.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Zahra Z., Choo D. H., Lee H., Parveen A. Cyanobacteria: Review of Current Potentials and Applications. *Environments*. 2020, 7(2), 13. doi:10.3390/environments7020013
2. Rueda E., García-Galán M. J., Díez-Montero R., Vila J., Grifoll M., García J. Polyhydroxybutyrate and glycogen production in photobioreactors inoculated with wastewater borne cyanobacteria monocultures. *Bioresource Technology*. 2019. 122233. doi:10.1016/j.biortech.2019.122233
3. Brasil B. dos S. A. F., de Siqueira F. G., Salum T. F. C., Zanette C. M., Spier M. R. Microalgae and cyanobacteria as enzyme biofactories. *Algal Research*. 2017, 25, 76–89. doi:10.1016/j.algal.2017.04.035
4. Suh I. S., Lee C.-G. Photobioreactor engineering: Design and performance. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*. 2003, 8(6), 313–321. doi:10.1007/bf02949274
5. Yen H.-W., Hu I.-C., Chen C.-Y., Nagarajan D., Chang J.-S. Design of photobioreactors for algal cultivation. *Biofuels from Algae*. 2019, 225–256. doi:10.1016/b978-0-444-64192-2.00010-x
6. Catarina Guedes A., Katkam N. G., Varela J., Xavier Malcata F. Photobioreactors for cyanobacterial culturing. *Cyanobacteria*. 2013, 270–292. doi:10.1002/9781118402238.ch17
7. Stal L. Poly(hydroxyalkanoate) in cyanobacteria: an overview. *FEMS Microbiology Letters*. 1992, 103(2-4), 169–180. doi:10.1016/0378-1097(92)90307-a
8. Kaewbai-ngam A., Incharoensakdi A., Monshupanee T. Increased accumulation of polyhydroxybutyrate in divergent cyanobacteria under nutrient-deprived photoautotrophy: An efficient conversion of solar energy and carbon dioxide to polyhydroxybutyrate by *Calothrix scytonemicola* TISTR 8095. *Bioresource Technology*. 2016, 212, 342–347. doi:10.1016/j.biortech.2016.04.035

9. Singh A. K., Sharma L., Mallick N., Mala J. Progress and challenges in producing polyhydroxyalkanoate biopolymers from cyanobacteria. *Journal of Applied Phycology*. 2016, 29(3), 1213–1232. doi:10.1007/s10811-016-1006-1
10. Smith A. J. Modes of cyanobacterial carbon metabolism. *Annales de l'Institut Pasteur / Microbiologie*. 1983, 134(1), 93–113. doi:10.1016/s0769-2609(83)80099-4
11. Rajan K. P., Thomas S. P., Gopanna A., Chavali M. Polyhydroxybutyrate (PHB): A Standout Biopolymer for Environmental Sustainability. *Handbook of Ecomaterials*. 2017, 1–23. doi:10.1007/978-3-319-48281-1\_92-1
12. McAdam B., Brennan Fournet M., McDonald P., Mojicevic M. Production of Polyhydroxybutyrate (PHB) and Factors Impacting Its Chemical and Mechanical Characteristics. *Polymers*. 2020, 12(12), 2908. doi:10.3390/polym12122908
13. Hondo S., Takahashi M., Osanai T., Matsuda M., Hasunuma T., Tazuke A. Genetic engineering and metabolite profiling for overproduction of polyhydroxybutyrate in cyanobacteria. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 2015, 120(5), 510–517. doi:10.1016/j.jbiosc.2015.03.004
14. Zhang S., Liu Y., Bryant D. A. Metabolic engineering of *Synechococcus* sp. PCC 7002 to produce poly-3-hydroxybutyrate and poly-3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate. *Metabolic Engineering*. 2015, 32, 174–183. doi:10.1016/j.ymben.2015.10.001
15. Kavitha G., Kurinjimalar C., Sivakumar K., Aravind R., Shree C. G., Arthi K. Mass cultivation of UV-B adapted *Arthrospira platensis* RRGK under open raceway pond for the production of Poly- $\beta$ -hydroxy butyrate. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2016, 93, 1304–1316. doi:10.1016/j.ijbiomac.2016.09.105
16. Ansari S., Fatma T. Cyanobacterial Polyhydroxybutyrate (PHB): Screening, Optimization and Characterization. *PLOS ONE*. 2016, 11(6), e0158168. doi:10.1371/journal.pone.0158168

17. Khetkorn W., Incharoensakdi A., Lindblad P., Jantaro S. Enhancement of poly-3-hydroxybutyrate production in *Synechocystis* sp. PCC 6803 by overexpression of its native biosynthetic genes. *Bioresource Technology*. 2016, 214, 761–768. doi:10.1016/j.biortech.2016.05.014
18. Carpine R., Du W., Olivieri G., Pollio A., Hellingwerf K. J., Marzocchella A., Branco dos Santos F. Genetic engineering of *Synechocystis* sp. PCC6803 for poly- $\beta$ -hydroxybutyrate overproduction. *Algal Research*. 2017, 25, 117–127. doi:10.1016/j.algal.2017.05.013
19. Kamravamanesh D., Pflügl S., Nischkauer W., Limbeck A., Lackner M., Herwig C. Photosynthetic poly- $\beta$ -hydroxybutyrate accumulation in unicellular cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6714. *AMB Express*. 2017, 7(1). <https://doi.org/10.1186/s13568-017-0443-9>
20. Troschl C., Meixner K., Fritz I., Leitner K., Romero A. P., Kovalcik A. Pilot-scale production of poly- $\beta$ -hydroxybutyrate with the cyanobacterium *Synechocystis* sp. CCALA192 in a non-sterile tubular photobioreactor. *Algal Research*. 2018, 34, 116–125. doi:10.1016/j.algal.2018.07.011
21. Kamravamanesh D., Kovacs T., Pflügl S., Druzhinina I., Kroll P., Lackner M., Herwig C. Increased poly- $\beta$ -hydroxybutyrate production from carbon dioxide in randomly mutated cells of cyanobacterial strain *Synechocystis* sp. PCC 6714: Mutant generation and characterization. *Bioresource Technology*. 2018, 266, 34–44. doi:10.1016/j.biortech.2018.06.057
22. Da Silva C. K., Costa J. A. V., de Morais M. G. Polyhydroxybutyrate (PHB) Synthesis by *Spirulina* sp. LEB 18 Using Biopolymer Extraction Waste. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2018, 185(3), 822–833. doi:10.1007/s12010-017-2687-x
23. Arisaka S., Terahara N., Oikawa A., Osanai T. Increased polyhydroxybutyrate levels by *ntcA* overexpression in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Algal Research*. 2019, 41, 101565. doi:10.1016/j.algal.2019.101565
24. Singh M.K., Rai P.K., Rai A., Singh S., Singh J.S. Poly- $\beta$ -Hydroxybutyrate Production by the Cyanobacterium *Scytonema geitleri* Bharadwaja

under Varying Environmental Conditions. *Biomolecules*. 2019, 9, 198. <https://doi.org/10.3390/biom9050198>

25. Carpine R., Olivieri G., Hellingwerf K. J. Photoautotrophic production of poly- $\beta$ -hydroxybutyrate (phb) from cyanobacteria: nitrate effects and screening of strains. *Environmental Engineering and Management Journal*. 2019, 18(6), 1337-1346.

26. Koch M., Bruckmoser J., Scholl J., Hauf W., Rieger B., Forchhammer K. Maximizing PHB content in *Synechocystis* sp. PCC 6803: a new metabolic engineering strategy based on the regulator PirC. *Microbial Cell Factories*. 2020, 19(1). doi:10.1186/s12934-020-01491-1

27. Roh H., Lee J. S., Choi H. I., Sung Y. J., Choi S. Y., Woo H. M., Sim S. J. Improved CO<sub>2</sub>-derived polyhydroxybutyrate (PHB) production by engineering fast-growing cyanobacterium *Synechococcus elongatus* UTEX 2973 for potential utilization of flue gas. *Bioresource Technology*. 2021, 327, 124789. doi:10.1016/j.biortech.2021.124789

28. Rueda E., García J. Optimization of the phototrophic Cyanobacteria polyhydroxybutyrate (PHB) production by kinetic model simulation. *Science of The Total Environment*. 2021, 800, 149561. doi:10.1016/j.scitotenv.2021.149561

29. González-Resendiz L., Sánchez-García L., Hernández-Martínez I., Viguera-Ramírez G., Jiménez-García L. F., Lara-Martínez R., Morales-Ibarría M. Photoautotrophic poly(3-hydroxybutyrate) production by a wild-type *Synechococcus elongatus* isolated from an extreme environment. *Bioresource Technology*. 2021, 337, 125508. doi:10.1016/j.biortech.2021.125508

30. Tharasirivat V., Jantaro S. Increased Biomass and Polyhydroxybutyrate Production by *Synechocystis* sp. PCC 6803 Overexpressing RuBisCO Genes. *Int. J. Mol. Sci*. 2023, 24, 6415. <https://doi.org/10.3390/ijms24076415>

31. Luan G., Zhang S., Wang M., Lu X. Progress and perspective on cyanobacterial glycogen metabolism engineering. *Biotechnology Advances*. 2019. doi:10.1016/j.biotechadv.2019.04.005

32. Xing W., Lusan L. Effects of the different nitrogen, phosphorus and carbon source on the growth and glycogen reserves in *Synechocystis* and *Anabaena*. *African Journal of Microbiology Research*. 2013, 7(23), 2820–2827. doi:10.5897/ajmr2013.5787
33. Aikawa S., Nishida A., Ho S.-H., Chang J.-S., Hasunuma T., Kondo A. Glycogen production for biofuels by the euryhaline cyanobacteria *Synechococcus* sp. strain PCC 7002 from an oceanic environment. *Biotechnology for Biofuels*. 2014, 7(1), 88. doi:10.1186/1754-6834-7-88
34. Comer A. D., Abraham J. P., Steiner A. J., Korosh T. C., Markley A. L., Pflieger B. F. Enhancing Photosynthetic Production of Glycogen-Rich Biomass for Use as a Fermentation Feedstock. *Frontiers in Energy Research*. 2020, 8. doi:10.3389/fenrg.2020.00093
35. Singhon P., Phoraksa O., Incharoensakdi A., Monshupanee T. Increased bioproduction of glycogen, lipids, and poly(3-hydroxybutyrate) under partial supply of nitrogen and phosphorus by photoautotrophic cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Journal of Applied Phycology*. 2021, 33(5), 2833–2843.
36. Ángeles R., Arnaiz E., Gutiérrez J., Muñoz R., Lebrero R. Biogas-based production of glycogen by *Nostoc muscorum*: Assessing the potential of transforming CO<sub>2</sub> into value added products. *Chemosphere*. 2021, 275, 129885. doi:10.1016/j.chemosphere.2021.129885
37. Manikandan N. A., Pakshirajan K., Pugazhenti G. Preparation and characterization of environmentally safe and highly biodegradable microbial polyhydroxybutyrate (PHB) based graphene nanocomposites for potential food packaging applications. *International journal of biological macromolecules*. 2020, 154, 866-877.
38. Roughly a third of the world's food is wasted \\ <https://www.theworldcounts.com/challenges/people-and-poverty/hunger-and-obesity/food-waste-statistics>

39. Xavier J. R., Babusha S. T., George J., Ramana K. V. Material properties and antimicrobial activity of polyhydroxybutyrate (PHB) films incorporated with vanillin. *Applied biochemistry and biotechnology*. 2015, 176, 1498-1510.
40. Correa J. P., Molina V., Sanchez M., Kainz C., Eisenberg P. Improving ham shelf life with a polyhydroxybutyrate/polycaprolactone biodegradable film activated with nisin. *Food Packaging and Shelf Life*. 2017, 11, 31-39.
41. Ma Y., Li L., Wang Y. Development of PLA-PHB-based biodegradable active packaging and its application to salmon. *Packaging Technology and Science*. 2018, 31(11), 739-746.
42. Rech C. R., Brabes K. C., Silva B. E., Martines M. A., Silveira T. F., Alberton J. Antimicrobial and physical–mechanical properties of polyhydroxybutyrate edible films containing essential oil mixtures. *Journal of Polymers and the Environment*. 2021, 29, 1202-1211.
43. Karahaliloglu Z., Ercan B., Taylor E. N., Chung S., Denkbaş E. B., Webster T. J. Antibacterial nanostructured polyhydroxybutyrate membranes for guided bone regeneration. *Journal of biomedical nanotechnology*. 2015, 11(12), 2253-2263.
44. Degli Esposti M., Chiellini F., Bondioli F., Morselli D., Fabbri P. Highly porous PHB-based bioactive scaffolds for bone tissue engineering by in situ synthesis of hydroxyapatite. *Materials Science and Engineering: C*. 2019, 100, 286-296.
45. Meischel M., Eichler J., Martinelli E., Karr U., Weigel J., Schmöller G., Stanzl-Tschegg S. E. Adhesive strength of bone-implant interfaces and in-vivo degradation of PHB composites for load-bearing applications. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*. 2016, 53, 104-118.
46. Asl M. A., Karbasi S., Beigi-Boroujeni S., Benisi S. Z., Saeed M. Evaluation of the effects of starch on polyhydroxybutyrate electrospun scaffolds for bone tissue engineering applications. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2021, 191, 500-513.

47. Chaturvedi K., Ganguly K., Kulkarni A. R., Rudzinski W. E., Krauss L., Nadagouda M. N., & Aminabhavi T. M. Oral insulin delivery using deoxycholic acid conjugated PEGylated polyhydroxybutyrate co-polymeric nanoparticles. *Nanomedicine*. 2015, 10(10), 1569-1583.
48. Kapoor S., Gupta D., Kumar M., Sharma S., Gupta A. K., Misro M. M., Singh H. Intracellular delivery of peptide cargos using polyhydroxybutyrate based biodegradable nanoparticles: Studies on antitumor efficacy of BCL-2 converting peptide, NuBCP-9. *International journal of pharmaceuticals*. 2016, 511(2), 876-889.
49. Babos G., Rydz J., Kawalec M., Klim M., Fodor-Kardos A., Trif L., Feczko T. Poly (3-hydroxybutyrate)-based nanoparticles for sorafenib and doxorubicin anticancer drug delivery. *International journal of molecular sciences*. 2020, 21(19), 7312.
50. Perveen K., Masood F., Hameed A. (2020). Preparation, characterization and evaluation of antibacterial properties of epirubicin loaded PHB and PHBV nanoparticles. *International journal of biological macromolecules*, 144, 259-266.
51. Pandian S. R. K., Kunjiappan S., Pavadai P., Sundarapandian V., Chandramohan V., Sundar K. Delivery of ursolic acid by polyhydroxybutyrate nanoparticles for cancer therapy: in silico and in vitro studies. *Drug Research*. 2022, 72(02), 72-81.
52. Ching, K. Y., Andriotis, O. G., Li, S., Basnett, P., Su, B., Roy, I., ... & Stolz, M. (2016). Nanofibrous poly (3-hydroxybutyrate)/poly (3-hydroxyoctanoate) scaffolds provide a functional microenvironment for cartilage repair. *Journal of biomaterials applications*, 31(1), 77-91.
53. Sanhueza, C., Hermosilla, J., Bugallo-Casal, A., Da Silva-Candal, A., Taboada, C., Millán, R., ... & Acevedo, F. (2021). One-step electrospun scaffold of dual-sized gelatin/poly-3-hydroxybutyrate nano/microfibers for skin regeneration in diabetic wound. *Materials Science and Engineering: C*, 119, 111602.
54. Köse, S., KAYA, F. A., Denkbaş, E. B., Korkusuz, P., & Cetinkaya, F. D. (2016). Evaluation of biocompatibility of random or aligned electrospun

polyhydroxybutyrate scaffolds combined with human mesenchymal stem cells. *Turkish Journal of Biology*, 40(2), 410-419.

55. Codreanu, A., Balta, C., Herman, H., Cotoraci, C., Mihali, C. V., Zurbau, N., ... & Hermenean, A. (2020). Bacterial cellulose-modified polyhydroxyalkanoates scaffolds promotes bone formation in critical size calvarial defects in mice. *Materials*, 13(6), 1433.

56. Koch, M., & Forchhammer, K. (2021). Polyhydroxybutyrate: A Useful Product of Chlorotic Cyanobacteria. *Microbial Physiology*, 31(2), 67–77. doi:10.1159/000515617

57. Martínez-Tobón, D. I., Gul, M., Elias, A. L., & Sauvageau, D. (2018). Polyhydroxybutyrate (PHB) biodegradation using bacterial strains with demonstrated and predicted PHB depolymerase activity. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(18), 8049–8067. doi:10.1007/s00253-018-9153-8

58. McAdam, B., Brennan Fournet, M., McDonald, P., & Mojicevic, M. (2020). Production of Polyhydroxybutyrate (PHB) and Factors Impacting Its Chemical and Mechanical Characteristics. *Polymers*, 12(12), 2908. doi:10.3390/polym12122908.

59. Santos, Antonio & Dalla Valentina, Luiz & Schulz, Andrey & Tomaz, Marcia. (2017). From Obtaining to Degradation of PHB:Material Properties. Part I. *Ingeniería y Ciencia*. 13. 269-298. doi:10.17230/ingciencia.13.26.10.

60. Виробництво та реалізація промислової продукції за видами [Електронний ресурс] // Режим доступу: [https://stat.gov.ua/uk/explorer?urn=SSSU:DF\\_PROD\\_SOLD\\_INDUSTRIAL\\_PRODUCTS\\_TYPE\(4.0.0\)](https://stat.gov.ua/uk/explorer?urn=SSSU:DF_PROD_SOLD_INDUSTRIAL_PRODUCTS_TYPE(4.0.0))

61. Kim J, Gupta NS, Bezek LB, Linn J, Bejagam KK, Banerjee S, Dumont JH, Nam SY, Kang HW, Park CH, et al. Biodegradation Studies of Polyhydroxybutyrate and Polyhydroxybutyrate-co-Polyhydroxyvalerate Films in Soil. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023; 24(8):7638. <https://doi.org/10.3390/ijms24087638>

62. ЗАКОН УКРАЇНИ Про обмеження обігу пластикових пакетів на території України [Електронний ресурс] // Режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/1489-20#n21>
63. Godbole, S. (2003). Preparation and characterization of biodegradable poly-3-hydroxybutyrate–starch blend films. *Bioresource Technology*, 86(1), 33–37. doi:10.1016/s0960-8524(02)00110-4
64. Kamravamanesh, D., Kovacs, T., Pflügl, S., Druzhinina, I., Kroll, P., Lackner, M., & Herwig, C. (2018). Increased poly- $\beta$ -hydroxybutyrate production from carbon dioxide in randomly mutated cells of cyanobacterial strain *Synechocystis* sp. PCC 6714: Mutant generation and characterization. *Bioresource Technology*, 266, 34–44. doi:10.1016/j.biortech.2018.06.057
65. Photoreactor [Електронний ресурс] // Режим доступу: [https://www.alibaba.com/product-detail/Spirulina-cultivation-device-Photoreactor\\_1600610023124.html?spm=a2700.galleryofferlist.normal\\_offer.d\\_title.29f87c2ePkfnam](https://www.alibaba.com/product-detail/Spirulina-cultivation-device-Photoreactor_1600610023124.html?spm=a2700.galleryofferlist.normal_offer.d_title.29f87c2ePkfnam)
66. Fiorese, M. L., Freitas, F., Pais, J., Ramos, A. M., de Aragão, G. M. F., & Reis, M. A. M. (2009). Recovery of polyhydroxybutyrate (PHB) from *Cupriavidus necator* biomass by solvent extraction with 1,2-propylene carbonate. *Engineering in Life Sciences*, 9(6), 454–461. doi:10.1002/elsc.200900034
67. Kim, M., Cho, K.-S., Ryu, H. W., Lee, E. G., & Chang, Y. K. (2003). *Biotechnology Letters*, 25(1), 55–59. doi:10.1023/a:1021734216612
68. Ghatnekar, M., Pai, J., & Ganesh, M. (2002). Production and recovery of poly-3-hydroxybutyrate from *Methylobacterium* sp V49. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 77(4), 444–448. doi:10.1002/jctb.570
69. Hahn, S. K., Chang, Y. K., Kim, B. S., & Chang, H. N. (1994). Optimization of microbial poly(3-hydroxybutyrate) recover using dispersions of sodium hypochlorite solution and chloroform. *Biotechnology and Bioengineering*, 44(2), 256–261. doi:10.1002/bit.260440215.
70. Оцінка динаміки і стану промислового виробництва хлібобулочної та борошняної продукції [Електронний ресурс] // Режим доступу:

<https://vap.org.ua/reviews/ocinka-dinamiki-i-stanu-promislovogo-virobnictva-hlibobulochnoi-ta-boroshnjanoi-produkcii/>

71. Ma, Y., Li, L., & Wang, Y. (2018). Development of PLA-PHB-based biodegradable active packaging and its application to salmon. *Packaging Technology and Science*, 31(11), 739-746.

72. Stainless Steel 35000 Liters Tank [Електронний ресурс] // Режим доступу: <https://www.equipnet.com/stainless-steel-35000-liters-tank-listid-764395/>

73. Відцентровий насос NF 130В [Електронний ресурс] // Режим доступу: [https://hotline.ua/ua/dacha\\_sad-nasosy-vodosnabzheniya/nasosyplusoborudovanie-nf-130b/](https://hotline.ua/ua/dacha_sad-nasosy-vodosnabzheniya/nasosyplusoborudovanie-nf-130b/)

74. Фільтр-прес продуктивністю до 30 м3 на годину [Електронний ресурс] // Режим доступу: <https://prom.ua/ua/p1417310307-press-filtr-proizvoditelnostyu.html>

75. Дозатор води та рідин [Електронний ресурс] // Режим доступу: [https://agro-teh.com.ua/ua/p370228267-dozator-vody-zhidkostej.html?source=merchant\\_center&gad\\_source=1&gclid=CjwKCAjwqre1BhAqEiwA7g9QhgGTNg6j3RsJvxj28MjDQd3Flltu8EyZZr9uglgHVlBQHZKL2feMwxoCGDQQAuD\\_BwE](https://agro-teh.com.ua/ua/p370228267-dozator-vody-zhidkostej.html?source=merchant_center&gad_source=1&gclid=CjwKCAjwqre1BhAqEiwA7g9QhgGTNg6j3RsJvxj28MjDQd3Flltu8EyZZr9uglgHVlBQHZKL2feMwxoCGDQQAuD_BwE)

76. Industrial Reactor [Електронний ресурс] // Режим доступу: [https://www.alibaba.com/product-detail/Yuxiang-Machinery-Competitive-Priced-10000l-Continuous\\_1601155451831.html?spm=a2700.7724857.0.0.47877c0azTrHGG&s=p](https://www.alibaba.com/product-detail/Yuxiang-Machinery-Competitive-Priced-10000l-Continuous_1601155451831.html?spm=a2700.7724857.0.0.47877c0azTrHGG&s=p)

77. Відцентровий насос SAER OP-40/3 [Електронний ресурс] // Режим доступу: [https://hotline.ua/ua/dacha\\_sad-nasosy-vodosnabzheniya/saer-op-403/](https://hotline.ua/ua/dacha_sad-nasosy-vodosnabzheniya/saer-op-403/)

78. Фільтр-прес з нержавіючої сталі [Електронний ресурс] // Режим доступу: <https://ua.loreekfilter.com/liquid-solid-separation/special-filter-press/stainless-steel-filter-press.html>

79. Stainless steel storage tank [Електронний ресурс] // Режим доступу: <https://www.arsilac.com/en/used-stainless-steel-tank-ruralinox-70hl>
80. Вакуум-випарна установка ВВУ-50 [Електронний ресурс] // Режим доступу: <https://ub.ua/market/view/13292594/all/vakuum-vuparnaya-ustanovka-vvu-50-kupit-v-ukraine/>
81. ШАФА СУШИЛЬНА ВАКУУМНА СВ-300 [Електронний ресурс] // Режим доступу: <https://thermolab.net.ua/ua/p1161938784-shkaf-sushilnyj-vakuumnyj.html>
82. wheeled container 50 ltr stainless steel [Електронний ресурс] // Режим доступу: <https://www.intergastro.com/wheeled-container-bhr-50-50-ltr-stainless-steel-518-mm-h-557-mm-242212>
83. 20L Double Layer Stainless Steel Chemical Reactor [Електронний ресурс] // Режим доступу: <https://www.laboao.com/products/stainless-steel-reactor/20l-double-layer-stainless-steel-chemical-reactor>
84. Змішувач V подібний 100л [Електронний ресурс] // Режим доступу: <https://khimmix.ua/ua/smesiteli-dlya-sypuchih/smesitel-v-obraznyj-100l>
85. waste container AV 4669 100 l stainless steel [Електронний ресурс] // Режим доступу: <https://www.intergastro.com/waste-container-av-4669-100-l-stainless-steel-460-mm-h-700-mm-242503>
86. Mono layer Blown film plant extruder [Електронний ресурс] // Режим доступу: <https://www.vishvaglobalx.com/mono-layer-blown-film-plant-extruder.html>
87. Bachhav, R., Bachhav, P., Bhamare, M., Bachhav, R., Sonawane, G., Pansare, K., & Patil, D. (2023). Review of high performance liquid chromatography and its applications. *JPPS*, 12(3), doi:15. 10.4172/2320-1215.12.3.004.
88. Pradhan, S., Dikshit, P. K., & Moholkar, V. S. (2018). Production, ultrasonic extraction, and characterization of poly (3-hydroxybutyrate)(PHB) using *Bacillus megaterium* and *Cupriavidus necator*. *Polymers for Advanced Technologies*, 29(8), 2392-2400.

89. ASTM Subcommittee D20.10 on Mechanical Properties. (1998). Standard Test Method for Tensile Properties of Plastics. American Society for Testing and Materials.