МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

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

«До захисту в ЕК»	**«До захисту допущено»**
Директор інституту(декан факультету)	Завідувач кафедри
_____ Грегірчак Н.М.	_____ Стабніков В.П.
(підпис) (прізвище та ініціали)	(підпис) (прізвище та ініціали)
« 02 » грудня 2024 р.	« 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: «Збагачені залізом дріжджі як основа біологічно активних добавок»

Виконала: здобувачка II курсу, групи 1

НЕГРЕТОВА Вікторія Василівна _____
(прізвище, ім'я, по батькові повністю) (підпис)

Керівник КРАСІНЬКО Вікторія Олегівна _____
(прізвище , ім'я та по батькові повністю) (підпис)

Консультанти _____ _____
(прізвище та ініціали) (підпис)

_____ _____
(прізвище та ініціали) (підпис)

_____ _____
(прізвище та ініціали) (підпис)

Рецензент ЛОМБЕРГ Маргарита _____
(прізвище та ініціали) (підпис)

Я як здобувачка Національного університету харчових технологій розумію і підтримую політику університету з академічної доброчесності. Я не надавала і не одержувала недозволеної допомоги під час підготовки цієї роботи. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

Здобувачка _____
(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 СТАБНІКОВ
« 08 » жовтня 2024 року

З А В Д А Н Н Я

НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

Негретова Вікторія Василівна
(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи Збагачені залізом дріжджі як основа біологічно активних добавок
керівник роботи Красінько Вікторія Олегівна, доц., к.т.н.,
(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 дріжджі збагачені залізом
4. Зміст пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити)
Реферат, Вступ, Розділ 1. Особливості одержання дріжджів, збагачених залізом Розділ 2. Перспективи використання дріжджів, збагачених залізом Розділ 3. Техніко-економічне обгрунтування Розділ 4. Обгрунтування вибору післяферментаційних процесів отримання субстанції Розділ 5. Опис технологічної схеми виділення і очищення субстанції Розділ 6. Технологічні особливості отримання готового продукту з субстанції Розділ 7. Контроль виробництва Розділ 8. Складання патентної заявки спосіб одержання залізовмісної біологічно активної добавки
5. Перелік графічного матеріалу
Технологічна схема ділянок отримання біомаси залізозбагачених дріжджів та отримання біологічно активної добавки – 1 аркуш формату А1. Апаратурна схема ділянок отримання біомаси залізозбагачених дріжджів та отримання біологічно активної добавки – 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	Особливості одержання дріжджів, збагачених залізом	08.10.24р.-14.10.24р	
2	Перспективи використання дріжджів, збагачених залізом	15.10.24р.-20.10.24р	
3	Техніко-економічне обгрунтування	21.10.24р.-25.10.24р	
4	Обґрунтування вибору післяферментаційних процесів отримання субстанції	26.10.24р.-15.10.24р	
5	Опис технологічної схеми виділення і очищення субстанції	26.10.24р.-31.10.24р	
6	Технологічні особливості отримання готового продукту з субстанції	01.11.24р.-06.11.24р	
7	Контроль виробництва	07.11.24р.-11.11.24р	
8	Складання патентної заявки спосіб одержання залізовмісної біологічно активної добавки	12.11.24р.-14.11.24р	
9	Оформлення пояснювальної записки	15.11.24р.-17.11.24р	
10	Виконання графічної частини проекту	18.11.24 р.-22.11.24р.	

Здобувач _____ Вікторія НЕГРЕТОВА
(підпис) (ім'я та прізвище)

Керівник роботи _____ Вікторія КРАСІНЬКО
(підпис) (ім'я та прізвище)

ABSTRACT

The qualification thesis focuses on the development of a technology for obtaining iron-enriched yeast biomass for the production of a biologically active supplement that will help prevent iron-deficiency anemia. This condition arises from insufficient intake or absorption of iron, a key element for hemoglobin synthesis and oxygen transport in the body. Research has shown that the highest intracellular iron accumulation was observed when using a pulsed electric field, resulting in an iron content of 48.01 mg Fe/g biomass in *Saccharomyces cerevisiae* 11B1 cells.

The study substantiates auxiliary processes (preparation of the drying agent) and the post-fermentation process of obtaining biomass (storage of the culture fluid, biomass separation, cell purification, and drying) and proposes suitable equipment.

To enhance the bioavailability of iron, ascorbic acid is added to the biomass, which creates optimal conditions for its absorption due to its chelating properties. At the same time, it partially meets the daily vitamin C requirement and provides antioxidant protection to the body.

The technology for producing the final biologically active supplement in capsule form includes the preparation of the mixture for encapsulation, encapsulation, packaging, labeling, and storage of the finished product.

The qualification thesis consists of an introduction, eight chapters, conclusions, references, and appendices. The total work volume is 120 pages, including 17 tables and 3 figures. The study utilized data from 111 literature sources.

Keywords: iron-deficiency anemia, *Saccharomyces cerevisiae* 11B1, biologically active supplement, capsules, iron, ascorbic acid.

РЕФЕРАТ

Кваліфікаційна робота зосереджена на розробці технології одержання біомаси дріжджів, збагаченої залізом, для виробництва біологічно активної добавки, що сприятиме профілактиці залізодефіцитної анемії, яка викликається через недостатнє споживання або засвоєння заліза – ключового елемента для синтезу гемоглобіну та транспорту кисню в організмі. Дослідження показали, що найбільше накопичення внутрішньоклітинного заліза спостерігалося при застосуванні імпульсного електричного поля, завдяки чому вміст заліза в клітинах *Saccharomyces cerevisiae* 11B1 досягав 48,01 мг Fe/г біомаси.

У роботі обґрунтовано допоміжні процеси (підготовка сушильного агента) та технологічний процес післяферментаційного отримання біомаси (зберігання культуральної рідини, відокремлення біомаси, очищення клітин та сушіння), а також пропонується відповідне обладнання.

Для підвищення біодоступності заліза до біомаси додається аскорбінова кислота, яка створює оптимальні умови для його абсорбції завдяки своїм хелатуючим властивостям, водночас забезпечуючи часткову добову потребу у вітаміні С та антиоксидантний захист організму.

Технологія отримання готової біологічно активної добавки у вигляді капсул включає етапи підготовки суміші для капсулювання, капсулювання, фасування, маркування та зберігання готової продукції.

Кваліфікаційна робота складається зі вступу, восьми розділів, висновків, списку використаних джерел та додатків. Загальний обсяг роботи – 120 сторінок, 17 таблиць та 3 рисунки. Під час написання роботи було використано дані з 111 літературних джерел.

Ключові слова: залізодефіцитна анемія, *Saccharomyces cerevisiae* 11B1, біологічно активна добавка, капсули, залізо, аскорбінова кислота.

СПИСОК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ЗДА	залізодефіцитна анемія
БАД	біологічно активна добавка
ІЕП	імпульсне електричне поле
ГПМЦ	гідроксипропілметилцелюлоза

ЗМІСТ

ABSTRACT 4

РЕФЕРАТ 5

СПИСОК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ 6

ВСТУП 9

ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД

РОЗДІЛ 1. ОСОБЛИВОСТІ ОДЕРЖАННЯ ДРІЖДЖІВ, ЗБАГАЧЕНИХ ЗАЛІЗОМ 11

1.1. Збагачення дріжджів залізом. 11

1.1.1. Механізми метаболізму заліза дріжджами. 12

1.1.2. Вибір оптимальних параметрів процесу. 13

1.1.3. Особливості культивування дріжджів з метою збагачення їх залізом. 16

РОЗДІЛ 2. ПЕРСПЕКТИВИ ВИКОРИСТАННЯ ДРІЖДЖІВ, ЗБАГАЧЕНИХ ЗАЛІЗОМ 19

2.1. Дослідження впливу залізодефіцитної анемії на здоров'я людини. 19

2.1.1. Причини дефіциту заліза в організмі. 21

2.2. Ефективність використання дріжджів, збагачених залізом в лікуванні та профілактиці захворювань. 25

2.2.1. Перевага використання дріжджів, збагачених залізом у лікуванні та для запобігання розвитку анемії. 26

ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА

РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ 29

3.1. Характеристика біотехнологічного продукту 29

3.2. Обґрунтування вибору біологічного агента 30

3.3. Огляд ринку цільової (аналогічної) продукції. 36

3.4. Розрахунок річної потужності виробництва. 40

РОЗДІЛ 4. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ПІСЛЯФЕРМЕНТАЦІЙНИХ ПРОЦЕСІВ ОТРИМАННЯ СУБСТАНЦІЇ 42

4.1. Обґрунтування вибору післяферментаційних процесів отримання біомаси залізозбагачених дріжджів. 42

4.1.1. Вибір способу відокремлення біомаси 42

4.1.2. Очищення клітин 45

4.1.3. Розведення відмитих клітин 46
4.1.4. Вибір способу сушіння 47
4.3. Специфікація обладнання 54
РОЗДІЛ 5. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ВИДІЛЕННЯ І ОЧИЩЕННЯ СУБСТАНЦІЇ 56
РОЗДІЛ 6. ТЕХНОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ОТРИМАННЯ ГОТОВОГО ПРОДУКТУ З СУБСТАНЦІЇ 59
6.1. Обґрунтування вибору форми та упаковки лікарського засобу 60
6.1.1. Обґрунтування форми випуску 61
6.1.2. Обґрунтування вибору упаковки 68
6.2. Обґрунтування технологічних особливостей одержання лікарського засобу 74
6.2.1. Вимоги до персоналу та одягу 75
6.2.2. Дезінфікуючі засоби 77
6.2.3. Підготовка води 78
6.2.4. Системи вентиляції та очищення повітря 80
6.3. Матеріальний розрахунок на серію виробництва лікарського засобу 82
6.5. Опис технологічної схеми отримання одержання лікарського засобу 83
РОЗДІЛ 7. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА 85
7.1. Сучасні методи контролю одержання біомаси залізозбагачених дріжджів 85
7.2. Методи контролю біологічно активної добавки 88
РОЗДІЛ 8. СКЛАДАННЯ ПАТЕНТНОЇ ЗАЯВКИ СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ЗАЛІЗОВМІСНОЇ БІОЛОГІЧНО АКТИВНОЇ ДОБАВКИ 98
8.1. Галузь і застосування корисної моделі 98
8.2. Відомі аналоги та їх основні недоліки 98
8.3. Постановка задачі корисної моделі та її вирішення 100
8.4. Опис запропонованого способу 101
8.5. Формула корисної моделі 102
8.6. Реферат 102
ВИСНОВКИ 104
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ 106
ДОДАТКИ 118

ВСТУП

Залізодефіцитна анемія є поширеною медичною проблемою, яка охоплює приблизно 30-50% населення світу (*Lee, 2020*). За оцінками, залізодефіцитна анемія вражає близько двох мільярдів людей у всьому світі, що має відповідні медичні та соціальні наслідки, враховуючи погіршення когнітивних здібностей у маленьких дітей, несприятливі наслідки вагітності як для матерів, так і для новонароджених, зниження фізичної працездатності у дорослих, а також зниження когнітивних функцій у людей похилого віку (*Camaschella, 2019*).

Вона досягла масштабів епідемії в країнах, що розвиваються, і стала основною глобальною проблемою охорони здоров'я, вражаючи головним чином дітей 0–5 років і молодих жінок дітородного віку та вагітних (*Kumar, & Ziouzenkova, 2022*).

Залізо необхідне для багатьох біологічних функцій, включаючи дихання, виробництво енергії, синтез ДНК і проліферацію клітин. Достатній запас заліза необхідний для правильного функціонування багатьох біохімічних процесів, включаючи реакції переносу електронів, регуляцію генів, зв'язування та транспортування кисню, а також регуляцію росту та диференціювання клітин (*Camaschella, 2015*) Дефіцит заліза може призвести до небезпечної для життя втрати еритроцитів, функції м'язів і виробництва енергії. Таким чином, патогенними особливостями, пов'язаними із залізодефіцитною анемією, є слабкість і порушення росту, рухової та когнітивної діяльності (*Kumar, & Ziouzenkova, 2022*).

Найпоширенішою причиною дефіциту заліза є неправильно збалансоване харчування, при якому потреба організму в залізі не може бути задоволена за рахунок засвоєння цього елемента з їжі. Цільові добавки заліза може бути основним методом попередження дефіциту заліза. Однак багато багатих залізом

добавок мають низьку біодоступність цього елемента (*Cappellini, & Taher, 2020*).

Збагачені залізом дріжджі можуть забезпечити доповнення цього мікроелемента до раціону, оскільки цей мінерал має кращу біодоступність, коли він зв'язаний з макромолекулами дріжджових клітин (Gaensly & Bonfim, 2011).

Актуальність даної роботи обумовлена важливістю попередження розвитку залізодефіцитної анемії. Оскільки, ЗДА може мати серйозні наслідки для здоров'я, такі як втома, слабкість, погіршення когнітивних функцій та інші проблеми, що значно погіршують якість життя та працездатність людей.

Новизна даної роботи полягає у створенні біологічно активної добавки на основі пекарських дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*, збагачених залізом, із додаванням аскорбінової кислоти для підвищення біодоступності заліза. Такий підхід дозволяє забезпечити ефективну профілактику залізодефіцитної анемії за рахунок використання інноваційного джерела заліза в поєднанні з оптимізатором його засвоєння, що має значний потенціал для застосування у медичній практиці та дієтології.

ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД

РОЗДІЛ 1. ОСОБЛИВОСТІ ОДЕРЖАННЯ ДРІЖДЖІВ, ЗБАГАЧЕНИХ ЗАЛІЗОМ

Мікроелементи відіграють важливу роль у підтримці здоров'я. Регулювання мікроелементів на метаболізм організму є важливою темою дослідження для науки про харчування, а також важливою сферою біологічних досліджень (*Bhattacharya, & Hussain, 2016*).

Комітет експертів Всесвітньої організації охорони здоров'я класифікує необхідні мікроелементи за трьома категоріями, які включають:

1. Перший клас (незамінні мікроелементи) – йод, залізо, цинк, магній, селен, мідь, молібден, хром і кобальт.
2. Другий клас включає марганець, кремній, нікель, бор і ванадій.
3. Третій клас – це мікроелементи, які є потенційно токсичними, але можуть виконувати необхідні функції для організму людини в низьких дозах, включаючи фтор, свинець, кадмій, ртуть, миш'як, алюміній, літій і олово (*Bhattacharya, & Hussain, 2016*).

Мікроелементи мають величезний вплив на всі функції організму. Більшість із них контролюють життєво важливі біохімічні реакції, діючи як кофактор або каталізатор для багатьох ферментів. Вони також діють як центри побудови стабілізуючих структур, таких як ферменти та білки. Накопичення металів або дефіцит цих елементів може стимулювати альтернативний шлях, який може викликати захворювання (*Prashanth, & Prasad, 2015*).

1.1. Збагачення дріжджів залізом.

Залізо відіграє критичну роль у багатьох аспектах функціонування організму людини. Однією з його основних функцій є транспорт кисню. Воно є ключовим компонентом гемоглобіну, білка, який забезпечує перенесення кисню з легень до різних тканин та органів, а також транспортує вуглекислий газ назад

до легень для виведення його з організму. Без достатнього рівня заліза гемоглобін не може ефективно виконувати свої функції, що може призвести до кисневого голоду органів та тканин (*Gupta, 2014*).

Крім того, залізо входить до складу міоглобіну, білка, який накопичує кисень у м'язовій тканині, забезпечуючи її необхідним киснем для правильного функціонування. Цей процес важливий для здійснення фізичних активностей та підтримки м'язового тонусу (*Chifman, & Torti, 2014*).

Залізо також є важливим для синтезу ДНК, генетичного матеріалу клітин. Воно необхідне для виготовлення нових ДНК-ланцюжків під час росту, розвитку та ремонту клітин. Без достатнього рівня заліза може порушитися цей процес, що може впливати на різні аспекти здоров'я та функціонування організму (*Nowosad, & Sujka, 2021*).

Крім того, залізо виконує ключову роль у реакціях переносу електронів, особливо в мітохондріях клітин, де відбувається процес виробництва енергії. Воно активно взаємодіє з іншими елементами, забезпечуючи нормальний обмін речовин та енергії в організмі (*Vogt, & Bachmann, 2021*).

Залізо є невід'ємним для багатьох важливих біологічних процесів в організмі людини, і його достатній рівень є критично важливим для забезпечення здоров'я та правильного функціонування (*Camaschella, 2015*).

1.1.1. Механізми метаболізму заліза дріжджами.

Дріжджові клітини поглинають залізо в основному через ферменти та білки на їхніх клітинних мембранах. Клітинні системи, задіяні в поглинанні та утилізації заліза, точно регулюються відповідно до наявності заліза та потреби клітин у залізі. Дефіцит заліза індукує експресію сімейства білків клітинної стінки, відомих як Fit1p, Fit2p і Fit3p. Дріжджові клітини розвинули дві системи транспорту заліза для поглинання заліза в різних концентраціях. Це відбувається без токсичності заліза в клітинах дріжджів і без дефіциту. Крім того, дріжджові клітини розвинули два механізми транспорту заліза з системою низької спорідненості і високої спорідненості, які координуються з ідентифікацією та поглинанням заліза (*Kwok, & Kosman, 2006*).

Ці системи відповідають за транспорт заліза в залізодостатніх і залізодефіцитних клітинах відповідно. На основі аналізу дріжджових мутантів деякі гени, пов’язані з транспортом заліза, були клоновані за допомогою специфічних мутацій і ефективного скринінгу. Наприклад, металоредуктази плазматичної мембрани, кодовані генами FRE1 і FRE2, можуть відновлювати тривалентне (Fe^{3+}) залізо. Гени транспортера Fe^{2+} FTR1 і FET4 розташовані на плазматичній мембрані дріжджів (*Kosman, 2003*).

Головну роль у метаболізмі заліза в дріжджах *Saccharomyces cerevisiae* відіграють фактори транскрипції Aft1/Aft2 і Yap5. Aft1/Aft2 реагують на низький рівень заліза і активують експресію набору генів, відомих як регулон заліза, тоді як Yap5, Msn2 і Msn4 активують експресію вакуолярного імпортера заліза під назвою Ccc1, який є найважливішим фактором для детоксикації високого рівня заліза (*Ramos-Alonso, & Puig, 2020*).

Інший механізм метаболізму заліза проявляють штами дріжджів *Metschnikowia*, особливо, які виробляють пульхерімін (*Wang, та ін., 2023*).

Пульхерімін візуально спостерігається у вигляді червоного пігменту, який утворюється при зв'язуванні заліза з пульхерімінової кислотою, що виділяється деякими дріжджами та бактеріями (*Metschnikowia spp., Kluyveromyces lactis, Bacillus licheniformis, Bacillus subtilis* та ін.). Даний пігмент необоротно зв'язує розчинне залізо, усуваючи вільне залізо в ростових середовищах, створюючи середовище дефіциту заліза, яке може пригнічувати ріст інших мікроорганізмів, що дає певну перевагу в конкурентній боротьбі. Цей механізм дозволяє дріжджам *Metschnikowia* конкурувати за залізо з іншими мікроорганізмами у спільному середовищі (*Mazeika та ін., 2021*).

1.1.2. Вибір оптимальних параметрів процесу.

Оптимізація параметрів культивування, вибір джерела заліза та його концентрації є одним з ключових факторів для підвищення накопичення заліза у дріжджів. Вони забезпечують оптимальні умови для ефективного забезпечення клітин залізом та підвищують ефективність процесу. Правильно підібрані параметри культивування сприяють збільшенню експресії генів, що

відповідають за транспорт та акумуляцію заліза у клітині. Вибір оптимального джерела заліза та його концентрації дозволяє ефективно використовувати ресурси та забезпечує належний рівень заліза у клітинах. Цей підхід сприяє покращенню виробництва збагачених залізом дріжджів.

У 2022 році вчені з Інституту хімічної технології В'єтнамської академії наук і технологій (*Nhu, & Thao, 2020*) досліджували вплив умов культивування на утворення біомаси дріжджів *Saccharomyces pastorianus* та накопичення заліза. Вони використовували методологію поверхні відгуку і схему Бокса–Бенкена. Оптимальні умови для збагачення дріжджів були встановлені при температурі 24°C, концентрації вуглеводного субстрату (у градусах Брикса) 13◦Bx, тривалості 49 годин і початковій концентрації заліза 656 мг/л. Максимальний рівень іонів Fe (III) у сухій масі клітин *S. pastorianus* склав 16,825 ± 0,651 мг/г.

У іншому науковому дослідженні (*Gaensly, & Bonfim, 2014*) дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* були виділені зі свіжого пресованого хлібопекарського дріжджового ферменту і культивовані в дріжджових середовищах з додаванням різних джерел заліза для визначення впливу джерел заліза на його поглинання клітинами та на вихід біомаси.

Результати досліджень показують, що культивування, доповнені хлоридом заліза 15 і 25 мг Fe/л і сульфатом заліза 15 і 25 мг Fe/л, показали найвищі значення внутрішньоклітинного заліза, близько 2,832 мг Fe/г сухої речовини, що в 27 разів перевищує кількість заліза, що спостерігається в контрольних умовах. Також було доведено, що різні джерела заліза не впливають на формування біомаси. Однак, враховуючи ефективність, вартість, стабільність та сумісність з метаболізмом *Saccharomyces cerevisiae*, рекомендується використання сульфату заліза.

Збагачені залізом дріжджі можуть забезпечити доповнення цього мікроелемента до раціону, оскільки цей мінерал має кращу біодоступність, коли він зв’язаний з макромолекулами дріжджових клітин (*Zeng та ін., 2023*).

Культивування пекарських дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* у біореакторі з використанням дріжджового середовища з додаванням і без

додавання сульфату заліза характеризувалось різними значеннями утворення біомаси та вказувало на те, що кількість заліза, доданого до середовища, не пригнічувала утворення біомаси.

Коли дріжджі культивували з використанням середовища, доповненого залізом, вміст внутрішньоклітинного заліза становив 8,062 ± 0,251 мг Fe/г сухої речовини наприкінці періоду культивування. Залишкове залізо, яке залишилося в середовищі для культивування, становило 78,155 ± 4,313 мг Fe/л . Оцінки внутрішньоклітинного вмісту заліза та залишкового заліза також проводили для культивування без добавок заліза з будь-якими значними результатами вмісту заліза. Ця біомаса зберегла свою здатність до бродіння, яку оцінювали як щодо вимірювання витіснення води через виробництво вуглекислого газу, так і щодо характеристик хлібобулочних виробів (*Gaensly, & Bonfim, 2011*).

У дослідженні (*Tafazzoli, & Khosravi-Darani, 2023*) використовували *S. boulardii* як економічний пробіотик, збагачений залізом, для біотрансформації. Процес проектування Бокса-Бенкена дозволив визначити оптимальні умови (концентрації меляси, заліза та KH_2PO_4) для цього процесу. Найкращі результати було досягнуто при використанні 20 г/л меляси, 43 г/л KH_2PO_4 і 12 мг/л $FeSO_4$, що призвело до максимальної біотрансформації заліза в 161,94 мг/л при масі біомаси 6 г/л.

Pas, Piskur, Sustaric, Raspor (*Pas, & Raspor, 2007*) у своєму дослідженні визначали найбільш оптимальне джерело заліза для культивування дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* з точки зору накопичення заліза в клітинах. В даному експерименті вони порівнювали такі джерела заліза, як ферум(III) цитрат, ферум(III) хлорид, ферум(III) нітрат та комплекс Fe EDTA. В ході досліджень ними було обрано ферум(III) цитрат, оскільки саме при використанні ферум(III) цитрат спостерігалося найбільше накопичення біомаси та внутрішньоклітинного заліза з найменшим зниженням ферментативної активності дріжджів.

Таблиця 1.1

Оптимальні параметри культивування дріжджів, збагачених залізом

Біологічний агент	Умови культивування		Накопичення заліза, мг Fe/ г АСБ	Джерело інформації
	Джерело заліза	Параметри культивування		
Saccharomyces cerevisiae	Сульфат заліза ($FeSO_4$)	20 год 150 об/хв 28 °C	2,832	Gaensly, & Bonfim, 2014
Saccharomyces cerevisiae	Сульфат заліза ($FeSO_4$)	12 год 100 об/хв 30 °C pH 4,5	8	Gaensly, & Bonfim, 2011
Saccharomyces pastorianus	Ферум(III) цитрат ($FeC_6H_5O_7$)	49 год 160 об/хв 24 °C pH 5,5	16,82	Nhu, & Thao, 2020
Saccharomyces cerevisiae ZIM 2155 (S288C)	Ферум(III) цитрат ($FeC_6H_5O_7$)	24 год 200 об/хв 28 °C	2,5	Pas, & Raspor, 2007
Saccharomyces boulardii ATCC 74068	Сульфат заліза ($FeSO_4$)	40 год 160 об/хв 37 °C pH 5,5	27	Tafazzoli, & Khosravi-Darani, 2023

1.1.3. Особливості культивування дріжджів з метою збагачення їх залізом.

Для стимулювання накопичення заліза у клітинах дріжджів використовують різні методи, такі як імпульсне електричне поле, додавання сидерофорів та злиття протопластів. Ці методи дозволяють досягти максимальної акумуляції заліза, не пригнічуючи ріст біологічного агента. Такий підхід забезпечує оптимальні умови для збагачення дріжджів залізом, збільшуючи їхню ефективність та потенціал.

Виробництво збагачених залізом дріжджів залежить не лише від вмісту заліза в клітинах, а й від виходу біомаси. Як правило, висока концентрація біомаси супроводжується низьким вмістом заліза або високий вміст заліза в клітинах супроводжувався низькою біомасою штамів. Для вирішення даної

проблеми застосовували технологію генетичної селекції – злиття протопластів. За оптимальних умов культивування концентрація біомаси та вміст заліза в штамі досягали 11 г/л і 25 мг Fe/г сухих речовин клітини (*Yuan, & Liu, 2004*).

У дослідженні Nowosad та Sujka (*Nowosad, & Sujka, 2021*) вивчено вплив імпульсного електричного поля на накопичення іонів заліза в клітинах *Saccharomyces cerevisiae* та визначено оптимальні умови для максимального поглинання цього елемента. Результати показали, що імпульсне електричне поле сприяє збільшенню накопичення заліза в клітинах *S. cerevisiae*.

При використанні концентрації іонів заліза 200 мкг/мл та умовах імпульсного електричного поля: напруга 1500 В, тривалість імпульсу 10 мкс, тривалість обробки 20 хв, кількість імпульсів 1200, а також оптимальний час культивування 20 годин, кількість накопиченого заліза зросла з 18,68 мг/г сухої маси (для контрольної культури, доданої заліза, але не обробленої імпульсним електричним полем) до 48,01 мг/г сухої маси. Обробка імпульсним електричним полем не вплинула значно на продукцію біомаси та життєздатність клітин. Аналіз показав, що імпульсне електричне поле стимулює проникність клітинного бар'єру, що призводить до підвищеної адсорбції іонів заліза на поверхні дріжджових клітин і їх взаємодії з позитивно зарядженими іонами заліза.

У іншому дослідженні (*Nowosad, & Sujka, 2021*) використовували дріжджі, збагачені іонами заліза, для виробництва коржів. Дріжджові клітини накопичували іони заліза із середовища, доповненого $(Fe(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$, додатково одну з культур обробляли імпульсним електричним полем для збільшення накопичення, культуру піддавали впливу протягом 20 хв при ширині імпульсу 10 мкс, напрузі електричного поля 1500 В, при частоті поля 1 Гц. В результаті потенційна біодоступність заліза з хліба, що містить 385,8 ± 4,12 мг заліза в 100 г сухої маси, становила 10,83 ± 0,94 %.

Дослідження авторів (*Zhang та ін., 2021*) фокусувалося на сидерофорах у середовищі з високим вмістом заліза, підтверджуючи зв'язок між транспортуванням заліза мікроорганізмами, вирощеними у такому середовищі,

та їхніми сидерофорами. Додавання сидерофора TZT-12 до *S. cerevisiae* призвело до отримання збагачених S-залізом дріжджів з концентрацією заліза 59,40 мг/г.

Таблиця 1.2

Особливості культивування дріжджів з метою збагачення їх залізом

Біологічний агент	**Умови культивування**		**Накопичення заліза, мг Fe/ г АСБ**	**Особливості культивування**	**Джерело інформації**
	Джерело заліза	**Параметри культивування**			
Saccharomyces cerevisiae 11B1	Гідрат нітрату заліза (III)	20 год 100 об/хв 30 °C	48,01	Умови імпульсного електричного поля: напруга 1500 В, тривалість імпульсу 10 мкс, тривалість обробки 20 хв, кількість імпульсів 1200.	Nowosad, & Sujka, 2021
Saccharomyces cerevisiae LK1110	Сульфат заліза ($FeSO_4$)	72 год 30 °C pH 6	59,4	Додавання 24 мкг/мл сидерофора TZT-12.	Zhang та ін., 2021
Saccharomyces cerevisiae ZYF-15	Сульфат заліза ($FeSO_4$)	30 °C 30 год pH 7	25	Збагачений залізом *Saccharomyces cerevisiae* ZYF-15 з високим виходом біомаси (11г/л) був сконструйований шляхом міжвидового злиття протопластів.	Yuan, & Liu, 2004

РОЗДІЛ 2. ПЕРСПЕКТИВИ ВИКОРИСТАННЯ ДРІЖДЖІВ, ЗБАГАЧЕНИХ ЗАЛІЗОМ

2.1. Дослідження впливу залізодефіцитної анемії на здоров'я людини.

Дефіцит заліза визначається як стан, при якому відсутні запаси заліза, які можна мобілізувати, і при якому спостерігаються ознаки порушення постачання заліза до тканин, включаючи еритрон, є найпоширенішим дефіцитом мікроелементів, який вражає майже третину населення, і основною причиною анемії в усьому світі (*Abbaspour, & Kelishadi, 2014*).

Залізодефіцитна анемія є медичною проблемою, яка охоплює приблизно 30-50% населення світу (*Lee, 2020*). За оцінками, вражає близько двох мільярдів людей у всьому світі, що призводить до зниження фізичної працездатності, проблем із навчанням і збільшення захворюваності (*Zimmermann, & Hurrell, 2007*).

Вона досягла масштабів епідемії в країнах, що розвиваються, і стала основною глобальною проблемою охорони здоров'я, вражаючи головним чином дітей 0–5 років і молодих жінок дітородного віку та вагітних (*Kumar, & Ziouzenkova, 2022*).

Всесвітня організація охорони здоров'я відносить залізодефіцитну анемію до третьої провідної причини втрачених років життя з поправкою на непрацездатність для жінок дітородного віку і серед 10 найпоширеніших захворювань для чоловіків у віковій групі 15–44 роки (*Shaw, & Friedman, 2011*).

Дефіцит заліза коливається від станів дефіциту заліза без анемії до більш важких станів з екстремальними гематологічними проявами, які відповідають найбільш клінічно важкому сценарію (*Liberal, & Barros, 2020*).

Глобальна поширеність дефіциту заліза без анемії залишається невизначеною, хоча запропонована цифра принаймні вдвічі перевищує показники залізодефіцитної анемії. Проблема стає ще більш актуальною, якщо

взяти до уваги функціональний дефіцит заліза, який виникає, коли залізо майже не мобілізується із запасів, як при хронічних запаленнях/інфекціях або коли енергійне розширення еритропоезу екзогенним або ендогенним еритропоетином викликає гостру диспропорцію між попит і пропозиція заліза (*Camaschella, 2019*).

Дефіцит заліза можна охарактеризувати як три різні стадії:

- при легкому дефіциті спостерігається нормальне вироблення залізозалежних білків;
- при граничному дефіциті заліза виробництво цих білків скомпрометовано, але синтез гемоглобіну та еритропоез зберігаються;
- при залізодефіцитній анемії утворення гемоглобіну порушується, а еритроцити мають характерну деформацію, малі (мікроцитарні) і бліді (гіпохромні) зі зниженою концентрацією гемоглобіну (*Coad, & Pedley, 2014*).

Деякі функціональні зміни можуть відбутися за відсутності анемії, але більшість функціональних дефіцитів виникають із розвитком анемії. Навіть легкі та помірні форми залізодефіцитної анемії можуть бути пов’язані з функціональними порушеннями, що впливають на когнітивний розвиток, механізми імунітету і працездатність. Дефіцит заліза під час вагітності пов'язаний з різними несприятливими наслідками як для матері, так і для дитини, включаючи підвищений ризик сепсису, материнської смертності, перинатальної смертності та низької ваги при народженні. Дефіцит заліза та анемія також знижують здатність до навчання та пов’язані з підвищенням рівня захворюваності (*Abbaspour, & Kelishadi, 2014*).

Симптоми дефіциту заліза, в основному, виникають в результаті анемії. Вони включають слабкість, головний біль, дратівливість, шум у вухах, фосфени (яскраві плями перед очима) та втома. Додаткові симптоми можуть включати комісуральний хейліт (тріщини в кутку рота) та койлоніхію (ложкоподібні нігті). У багатьох пацієнтів дефіцит заліза може протікати без симптомів, але у деяких відмічається піка (наприклад, споживання глини або ґрунту, відоме як геофагія).

Геофагія, або крижана піка, є характерною ознакою залізодефіцитних станів. Дефіцит заліза також може бути однією з причин синдрому неспокійних ніг, який характеризується інтенсивним дискомфортом у ногах у спокої, що полегшується лише під час руху (*Barragán-Ibañez, & Ramos-Peñafiel, 2016*).

Дефіцит заліза може призвести до серйозних наслідків, таких як небезпечна втрата еритроцитів, що загрожує життю, порушення функцій м'язів та недостатнє виробництво енергії. Патологічні ознаки залізодефіцитної анемії можуть включати слабкість, порушення росту, рухову та когнітивну дисфункції (*Kumar, & Ziouzenkova, 2022*).

Дефіцит заліза також може викликати втому, поганої концентрації (мозковий туман), алопеції, ребристих/ламких нігтів, болючих і неспокійних ніг, зниження толерантності до фізичних навантажень, тривоги, поганого настрою/депресії та низької продуктивності (*Stevens ma ін., 2013*).

Материнська анемія є фактором ризику передчасних пологів, новонароджених з низькою вагою та малим для гестаційного віку дітей, а також підвищення перинатальної та неонатальної смертності. Діти, народжені матерями з дефіцитом заліза, демонструють порушення навчання та пам’яті, які зберігаються в дорослому віці. Немовлята, народжені з ознаками внутрішньоутробного дефіциту заліза демонструють погану пам’ять, змінені взаємодії з особами, які доглядають за ними, і аномальні неврологічні рефлекси (*Rahman, & Rahman, 2020*).

У всьому світі залізодефіцитна анемія має відповідні медичні та соціальні наслідки, враховуючи погіршення когнітивних здібностей у маленьких дітей, несприятливі наслідки вагітності як для матерів, так і для новонароджених, зниження фізичної працездатності у дорослих, а також зниження когнітивних функцій у людей похилого віку (*Camaschella, 2019*).

2.1.1. Причини дефіциту заліза в організмі.

У країнах, що розвиваються, дефіцит заліза та залізодефіцитна анемія зазвичай є результатом недостатнього споживання їжі, втрати крові через паразитарні захворювання кишечника або обох причин. У країнах з високим

рівнем доходу, натомість, основними причинами є певні дієтичні звички (наприклад, вегетаріанський раціон або відсутність червоного м'яса) та патологічні стани (наприклад, хронічна крововтрата або порушення всмоктування). Парадоксально, але зменшити поширеність залізодефіцитної анемії в країнах з високим рівнем доходу важче, ніж у країнах з низьким рівнем доходу. Однією з причин цього, здавалося б, парадоксу є високий рівень дефіциту заліза серед старіючого населення (*Camaschella, 2015*).

Розвиток залізодефіцитної анемії зазвичай відбувається повільно, за винятком ситуацій масивної крововтрати. Також відомо, що дефіцит заліза може бути результатом кількох одночасних факторів. У країнах, що розвиваються, бідність, недоїдання, голод, анкілостомідози та шистосомоз, що призводить до хронічної втрати крові, є очевидними причинами анемії серед людей з дефіцитом заліза, тоді як у промислово розвинених країнах вегетаріанські раціони, порушення всмоктування та хронічна крововтрата через менструальні цикли можуть спричиняти залізодефіцитну анемію. У людей похилого віку поширеність анемії пов'язана зі старінням, запаленням, зниженням рівня еритропоетину та онкологічними захворюваннями. Інші фактори, такі як ожиріння, застійна серцева недостатність та генетичні причини, також можуть сприяти розвитку залізодефіцитної анемії (*Liberal, & Barros, 2020*).

Традиційно прийнято вважати, що дефіцит заліза розвивається через численні добре відомі механізми, окремо або в комбінації, тобто через недостатнє споживання, знижене всмоктування, фізіологічне збільшення потреби або надмірну втрату заліза (*Denic, & Agarwal, 2007*).

Умови, що ще більше збільшують втрату заліза, обмежують всмоктування або підвищують його потребу, такі як регулярне донорство крові, захворювання шлунково-кишкового тракту, активний спорт або стан вагітності, можуть в рази перевищувати можливості шлунково-кишкового тракту з регулювання всмоктування заліза (*Coad, & Pedley, 2014*).

Анемічні стани часто виникають, коли підвищений попит на залізо не відповідає достатньому забезпеченню, і вони виникають переважно у дітей та

вагітних жінок. Крім того, підвищена втрата заліза вражає переважно людей похилого віку та є наслідком застосування препаратів, що викликають шлунково-кишкові кровотечі. Внесок у дефіцит заліза у людей похилого віку також походить від постійного впливу субклінічного запалення, яке модулює експресію гепсидину, погіршує підтримку гомеостазу заліза та призводить до розвитку анемії хронічних захворювань (*Gozzelino, & Arosio, 2016*).

Менструальна крововтрата, аномальна маткова кровотеча та крововтрата з шлунково-кишкового тракту є найпоширенішими причинами дефіциту заліза у жінок із країн із високим рівнем доходу, тоді як анкілостомідоз, серповидно-клітинні захворювання, малярія та шистосомоз домінують у країнах із низьким і середнім доходом населення. Порушення всмоктування заліза з дієти або нестача заліза в їжі (наприклад, веганство) є все більш поширеними причинами дефіциту заліза. Мальабсорбція може бути пов’язана з непереносимістю глютену та лактози та спричинена атрофією ворсинок у шлунку. Це також спричинено аутоімунними захворюваннями, такими як системний червоний вовчак. Погане засвоєння в поєднанні з більшими втратами через менструальну кровотечу робить дефіцит заліза набагато більш поширеним у жінок. У літніх жінок хронічна хвороба нирок і погане харчування є важливими факторами (*Benson ma ін., 2021*).

Хоча анемія часто досліджується у певних групах, таких як жінки в період вагітності та діти, ризик виникнення цього стану у чоловіків зростає. У чоловіків існують кілька факторів, які сприяють ризику розвитку анемії, включаючи їх етнічну приналежність. Дослідження показують, що вік вважається більшим фактором ризику для чоловіків, ніж для жінок.

Причини дефіциту заліза в організмі чоловіків можуть бути різноманітні. Абсолютний дефіцит заліза може виникати внаслідок підвищеної фізіологічної потреби в залізі, недостатнього споживання цього мікроелемента, порушень у процесі всмоктування заліза або хронічної крововтрати.

Залізодефіцитна анемія також може мати функціональну природу, коли, незважаючи на наявність достатніх запасів заліза, воно не вбудовується в

еритроїдні попередники. Ця патологія часто спостерігається в умовах інфекційних, запальних та злоякісних захворювань, де можлива порушена метаболіка заліза (*Sheikh, та ін., 2021*).

Ретельний аналіз наукової літератури надав можливість систематизувати головні фактори та причини, які викликають розвиток залізодефіцитної анемії. Ці висновки проілюстровані та узагальнені у *таблиці 2.1*, що наведена нижче. Вона відображає різноманітні механізми та впливові чинники, які можуть призвести до дефіциту заліза в організмі, сприяючи усвідомленню та розумінню проблематики залізодефіцитної анемії. Представлена інформація має важливе значення для належного усвідомлення та розуміння проблеми залізодефіцитної анемії, а також для розробки ефективних стратегій її профілактики та лікування.

Таблиця 2.1

Основні причини залізодефіцитної анемії

Фактори, що спричиняють дефіцит заліза	**Стани, що спричинюють дефіцит заліза**	**Патофізіологічний механізм**
Підвищені потреби в залізі	Немовлята, діти дошкільного віку, підлітки	Швидке зростання
	Вагітні: другий і третій триместри	Збільшення еритроїдної маси матері та плода
Низьке споживання заліза	Недоїдання	Недостатня кількість заліза в їжі: низький вміст гемового заліза або мало біодоступного заліза (наприклад, хелатованого фітатами)
	Вегетаріанці, вегани	
Зниження всмоктування заліза в кишечнику	Гастректомія, дуоденальне шунтування, баріатрична хірургія	Зменшення поглинаючої поверхні
	Глютен-індукована ентеропатія	
	Аутоімунний атрофічний гастрит	Підвищений pH
	Інфекція *Helicobacter pylori*	Підвищення pH і крововтрата
	Лікарські засоби: інгібітори протонної помпи, H2-блокатори	Блокування секреції шлункової кислоти

Закінчення таблиці 2.1

Хронічна крововтрата	Анкілостомоз	Кровотечі з шлунково-кишкового тракту
	Рясні менструації, гематурія	Кровотечі з сечостатевої системи
	Внутрішньосудинний гемоліз	Втрата гемоглобіну (заліза) із сечею
	Лікарські засоби: антикоагулянти, антиагреганти	Системні кровотечі
	Часті донори крові	Повторне кровопускання
Численні причини (абсолютний дефіцит заліза, пов'язаний із запаленням)	Хронічні інфекції при неправильному харчуванні	Знижене споживання, підвищення прозапальних цитокінів
	Хронічна хвороба нирок	Зменшення всмоктування заліза, збільшення крововтрати, зниження виведення гепсидину та збільшення виробництва, ліки
	Хронічна систолічна серцева недостатність	Зниження всмоктування заліза, посилення запалення, крововтрата
	Запальні захворювання кишечника	Зниження всмоктування заліза, збільшення крововтрати, високий гепсидин
	Післяопераційна анемія великого хірургічного втручання	Крововтрата, підвищення прозапальних цитокінів

2.2. Ефективність використання дріжджів, збагачених залізом в лікуванні та профілактиці захворювань.

Згідно з останніми даними Всесвітньої організації охорони здоров'я навесні 2023 року, рівень анемії в розвинених країнах контролюється. У надлишку мінерали можуть легко генерувати вільні радикали, тоді як органічна форма має менший потенціал токсичності. Однак мінеральне залізо, на відміну від його органічної форми, має меншу розчинність, тому воно не легко

всмоктується з травного тракту та має меншу біодоступність, більшу токсичність і шлунково-кишкові побічні ефекти (*Tafazzoli, & Khosravi-Darani, 2023*).

Тим часом біотрансформація є хорошим підходом до подолання проблем мінерального заліза. Збагачення харчового ланцюгу людини неорганічним залізом стає можливим завдяки мікробній біотрансформації, яка є більш контрольованою і можливою у мікроорганізмів, ніж у рослин і тварин (*Tafazzoli, & Khosravi-Darani, 2023*).

2.2.1. Перевага використання дріжджів, збагачених залізом у лікуванні та для запобігання розвитку анемії.

Залізо в харчових продуктах може бути представлене у двох основних формах: гемове та негемове. Гемове залізо міститься у гемоглобіні та міоглобіні, які є складовими крові та м'язової тканини відповідно. Ця форма заліза зазвичай походить з тваринних джерел, таких як м'ясо, риба та птиця. Гемове залізо легше всмоктується організмом і має вищу біодоступність (15-35%) порівняно з негемовим. Воно становить лише близько 15% від загального споживання заліза з їжею (*Timmer та ін., 2020*).

Негемове залізо, навпаки, міститься у рослинних джерелах, таких як овочі, фрукти, злаки та горіхи, а також у збагачених харчових продуктах. Ця форма заліза менше біодоступна (1-10%) для людини порівняно з гемовим залізом, оскільки вона зазвичай має меншу здатність до всмоктування організмом (*Skolmowska, & Głąbska, 2019*).

Проте люди не в змозі задовольнити харчові потреби організму в мікроелементах лише з їжі, що призводить до стабільного стану мікроелементів в організмі людини, який часто стає недостатнім (*Sun, та ін., 2022*).

За останні два десятиліття було розроблено кілька форм добавок заліза для лікування залізодефіцитної анемії. На даний момент дослідження більше спрямовані на дію цих добавок у відновленні крові, а побічні ефекти, такі як запалення кишечника, залишаються маловивченими.

Серед пероральних препаратів заліза, що використовуються в клінічній практиці, є переважно традиційними препаратами заліза, такими як $FeSO_4$,

сукцинат заліза, фумарат заліза, глюконат заліза, гліцин заліза, але всі вони мають запах заліза, нестабільність, низьку біодоступність і схильність до дієтичного табу, токсичність вільного заліза, шлунково-кишковий дискомфорт та інші симптоми.

Останнім часом з'явилося багато нових добавок заліза, зокрема дріжджі, багаті залізом, які мають високу біодоступність та малу токсичність. Дослідження показали, що вони можуть бути ефективними в лікуванні залізодефіцитної анемії, демонструючи переваги перед іншими формами заліза (*Chen та ін., 2024*).

Цільові добавки заліза та збагачення їжі можуть бути основними методами лікування та профілактики дефіциту заліза в популяції. Однак багато багатих залізом добавок і продуктів харчування мають низьку біодоступність цього елемента (*Cappellini, & Taher, 2020*).

Пекарські дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* використовуються як харчова дієтична добавка для годівлі людей і тварин завдяки багатству білками, вітамінами групи B і клітковиною. Численні дослідження вивчили потенціал цих дріжджів як ефективного джерела заліза для полегшення дефіциту заліза і продемонстрували біодоступність дріжджового заліза, яке використовується для збагачення їжі (*Sabatier, & Schaffer-Lequart, 2017*).

Дріжджі відомі як найкращий варіант, оскільки вони мають потенціал діяти як невелика природна фабрика біотрансформації. Вони поглинають мінеральні елементи, які збагачують ростове середовище, в контрольованих та специфічних умовах, та конвертувати їх у органічну форму за допомогою поєднання з клітинними макромолекулами (*Tafazzoli, & Khosravi-Darani, 2023*). Прості у вирощуванні та легкодоступні дріжджі, такі як пекарські штами *S. cerevisiae,* є чудовими природними джерелами необхідних металів, таких як K, Mg, Ca, Fe, Mn та Zn, і ці дріжджі можна додатково збагатити іншими неорганічними мікроелементами (*Walker, 2004*).

Збагачені залізом дріжджі можуть забезпечити доповнення цього мікроелемента до раціону, оскільки цей мінерал має кращу біодоступність, коли

він зв’язаний з макромолекулами дріжджових клітин (*Gaensly & Bonfim, 2011*).

В останні роки мікроорганізми, особливо дріжджі, використовувалися як носії мікроелементів для отримання органічних мікроелементів, які легше перетравлюються та засвоюються з підвищеною біологічною активністю. Вони також недорогі у виробництві. На додаток до низької вартості, збагачені мікроелементами дріжджі можуть ефективно замінити інші неорганічні та органічні мікроелементні харчові добавки. Крім того, дріжджі також можна використовувати для обробки ґрунту, очищення води та в багатьох інших сферах. Виходячи з вищезазначених переваг і перспектив застосування в багатьох галузях, дріжджі як джерело мікроелементів привернули інтенсивну увагу з точки зору досліджень і ринку (*Sun, та ін., 2022*).

Дана харчова добавка може стати новим і безпечнішим рішенням для запобігання розвитку анемії. Оскільки таке джерело заліза є менш токсичне і краще засвоюється організмом (*Liberal, & Barros, 2020*).

Узагальнюючи висновки аналізу досліджень, присвячених збагаченню дріжджів залізом, можна зробити висновок, що цей напрямок має значний потенціал для створення біологічно активних добавок і харчових продуктів з підвищеним вмістом заліза та високою біодоступністю. Особливий інтерес викликає використання імпульсного електричного поля, який сприяє ефективному накопиченню заліза в клітинах дріжджів за рахунок впливу на клітинні мембрани та покращення транспорту мікроелемента через бар'єри клітини.

Додатково перспективними є підходи, що включають застосування сидерофорів, які підвищують ефективність накопичення заліза та забезпечують його стабільність і доступність для клітинних процесів. Усі ці методи, у поєднанні з оптимізацією умов культивування, дозволяють отримувати залізобагачені дріжджі, які можуть стати ефективним інструментом у профілактиці та подоланні дефіциту заліза. Такий підхід сприяє покращенню загального рівня здоров'я населення та впровадження інноваційних рішень у харчовій та фармацевтичній промисловості.

ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА

РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ

3.1. Характеристика біотехнологічного продукту

Кінцевий продуктом біотехнологічного виробництва є біологічно активна добавка на основі дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* збагачених залізом для профілактики залізодефіцитної анемії у людей.

Залізо відіграє важливу роль у багатьох аспектах функціонування організму людини. Однією з його основних функцій є транспорт кисню. Воно є ключовим компонентом гемоглобіну – білка, який забезпечує перенесення кисню з легень до різних тканин та органів, а також транспортує вуглекислий газ назад до легень для виведення його з організму. Без достатнього рівня заліза гемоглобін не може ефективно виконувати свої функції, що може призвести до кисневого голоду органів та тканин (*Gupta, 2014*).

Залізо також входить до складу міоглобіну – білка, який зберігає кисень у м'язовій тканині, забезпечуючи її необхідним киснем для належного функціонування. Це особливо важливо для фізичної активності та підтримання м'язового тонусу (*Chifman, & Torti, 2014*).

Залізо також є важливим для синтезу ДНК, генетичного матеріалу клітин. Воно необхідне для виготовлення нових ДНК-ланцюгів під час росту, розвитку та ремонту клітин. Без достатнього рівня заліза може порушитися цей процес, що може впливати на різні аспекти здоров'я та функціонування організму (*Nowosad, & Sujka, 2021*).

Крім того, залізо виконує ключову роль у реакціях переносу електронів, особливо в мітохондріях клітин, де відбувається процес виробництва енергії. Воно активно взаємодіє з іншими елементами, забезпечуючи нормальний обмін речовин та енергії в організмі (*Vogt, & Bachmann, 2021*).

Залізо є невід'ємним компонентом для багатьох важливих біологічних процесів в організмі людини, і його достатній рівень є необхідним для забезпечення здоров'я та правильного функціонування (*Camaschella, 2015*).

Останнім часом з'явилося багато нових добавок заліза, зокрема дріжджі, збагачені залізом, які мають високу біодоступність та низьку токсичність. Дослідження показали, що вони можуть бути ефективними в лікуванні залізодефіцитної анемії, демонструючи переваги перед іншими формами заліза (*Chen та ін., 2024*).

Пекарські дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* використовуються як харчова дієтична добавка для людей і тварин завдяки великому вмісту білків, вітамінів групи В і клітковини. Численні дослідження вивчили потенціал цих дріжджів як ефективного джерела заліза для полегшення дефіциту заліза і продемонстрували біодоступність дріжджового заліза (*Sabatier, & Schaffer-Lequart, 2017*).

Дріжджі вважаються найкращим варіантом, оскільки вони мають потенціал діяти як невеликі природні фабрики для біотрансформації. Вони поглинають мінеральні елементи, які збагачують субстрат для росту в контрольованих та специфічних умовах, перетворюючи їх в органічну форму через поєднання з клітинними макромолекулами (*Tafazzoli, & Khosravi-Darani, 2023*). Прості у вирощуванні та легкодоступні дріжджі, такі як пекарські штами *S. cerevisiae*, є чудовими природними джерелами необхідних металів, таких як K, Mg, Ca, Fe, Mn та Zn, і ці дріжджі можна додатково збагатити іншими неорганічними мікроелементами (*Walker, 2004*).

Дана біологічно активна добавка може стати новим і безпечнішим рішенням для запобігання розвитку анемії. Оскільки таке джерело заліза є менш токсичним і краще засвоюється організмом (*Liberal, & Barros, 2020*).

3.2. Обґрунтування вибору біологічного агента

Згідно з останніми даними Всесвітньої організації охорони здоров’я навесні 2023 року, рівень анемії в розвинених країнах контролюється. У надлишку мінерали можуть легко генерувати вільні радикали, тоді як органічна форма має менший потенціал токсичності. Однак мінеральне залізо, на відміну

від його органічної форми, має меншу розчинність, тому воно не легко всмоктується з травного тракту та має меншу біодоступність, більшу токсичність і шлунково-кишкові побічні ефекти.

Тим часом біотрансформація є хорошим підходом до подолання проблем мінерального заліза. Збагачення харчового ланцюгу людини неорганічним залізом стає можливим завдяки мікробній біотрансформації, яка є більш контрольованою і можливою у мікроорганізмів, ніж у рослин і тварин.

Дріжджі відомі як найкращий варіант, оскільки вони мають потенціал діяти як невелика природна фабрика біотрансформації. Вони поглинають мінеральні елементи, які збагачують ростове середовище, в контрольованих та специфічних умовах, та конвертувати їх у органічну форму за допомогою поєднання з клітинними макромолекулами (*Tafazzoli, & Khosravi-Darani, 2023*). Хоча існує багато видів дріжджів, *Saccharomyces*, безумовно, є найбільш комерційно доступним. Легко вирощувані та доступні дріжджі, такі як пекарські чи пивні штами *S. cerevisiae* є чудовим природним джерелом основних металів, таких як K, Mg, Ca, Fe, Mn і Zn, і ці дріжджі можуть бути додатково збагачені іншими неорганічними мікроелементами (наприклад, селеном) (*Nowosad, & Sujka, 2021*).

Дані, наведені у табл. 3.1, свідчать, що *Saccharomyces cerevisiae* (штам не вказаний) (*Gaensly, & Bonfim, 2011*) та *Saccharomyces cerevisiae* (штам не вказаний) (*Gaensly, & Bonfim, 2014*) мають однаковий склад поживного середовища, маючи відмінність тільки в концентрації сульфату заліза. Щодо штаму дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* 11B1 (*Nowosad, & Sujka, 2021*) виявлено його високу здатність до накопичення заліза (48,01 мг Fe/г сухої біомаси) та виробництва середньої кількості біомаси (9,2 г/л) протягом 20 годин. Для поліпшення накопичення заліза цим штамом дріжджів було використано імпульсне електричне поле. З іншого боку, штам *Saccharomyces cerevisiae* ZYF-15 (*Yuan, & Liu, 2004*) відзначається найвищою продуктивністю біомаси (11 г/л) протягом тривалого періоду культивування – 30 годин.

Тому на наступному етапі вибору біологічного агенту розрахуємо вартість поживних середовищ для культивування вибраних мікроорганізмів (табл. 3.2).

Як видно з даних, наведених у табл. 3.2, середовище для культивування *Saccharomyces cerevisiae* (штам не вказаний) та *Saccharomyces cerevisiae* (штам не вказаний) є майже у 1,8 та 2,1 рази дешевшим, ніж для *Saccharomyces cerevisiae* 11B1 та *Saccharomyces cerevisiae* ZYF-15 відповідно. Проте, під час культивування цих штамів утворюється в рази менше біомаси та акумулюється значно менша кількість заліза.

Для остаточного вибору біологічного агента розрахуємо умовну вартість 1 г цільового продукту (табл. 3.3). Дані, наведені у табл. 3.3, засвідчують, що умовна вартість біомаси, синтезованої штамом *Saccharomyces cerevisiae* 11B1 та *Saccharomyces cerevisiae* ZYF-15 є найнижчою (2,46 грн/г), а кількість утвореної біомаси за 1 год – 9,2 та 11 г/год відповідно.

Враховуючи час культивування, кінцеву концентрацію акумульованого Fe, вартість поживного середовища та умовну вартість 1 г біомаси дріжджів оптимальним біологічним агентом було обрано штам *Saccharomyces cerevisiae* 11B1.

Таблиця 3.1

Особливості одержання дріжджів збагачених залізом на суміші ростових субстратів

Біологічний агент	**Склад поживного середовища:**		**Тривалість культивування, год**	**Концентрація біомаси, г/л**	**Кінцева концентрація акумульованого Fe, мг Fe/ г АСБ**	**Особливості процесу біосинтезу**	**Використана література**
	компонент	**концентрація г/л**					
1	*2*	*3*	*4*	*5*	*6*	*7*	*8*
Saccharomyces cerevisiae 11B1	Пептон Дріжджовий екстракт Глюкоза $Fe(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$	10,0 5,0 10,0 0,2	20	9,2	48,01	100 об/хв, 30 ℃ Було застосовано імпульсне електричне поле з такими умовами: напруга 1500 В, тривалість імпульсу 10 мкс, тривалість обробки 20 хв, кількість імпульсів 1200.	Nowosad, & Sujka, 2021
Saccharomyces cerevisiae ZYF-15	Глюкоза Пептон Дріжджовий екстракт Сульфат заліза	80 5 10 1,6	30	11	25	30 ℃ 200 об/хв pH 7	Yuan, & Liu, 2004

Закінчення таблиці 3.1

Saccharomyces cerevisiae (штам не вказаний)	Декстроза Пептон Дріжджовий екстракт Солодовий екстракт Сульфат заліза	10 5 3 3 0,497	12	0,265	8,062	150 об/хв, 28 °C, pH 4,5	Gaensly, & Bonfim, 2011
Saccharomyces cerevisiae (штам не вказаний)	Декстроза Пептон Дріжджовий екстракт Солодовий екстракт Сульфат заліза	10 5 3 3 0,025	12	0,35	2,832	150 об/хв, 28 °C, pH 4,4	Gaensly, & Bonfim, 2014

Таблиця 3.2

Вартість поживного середовища для культивування дріжджів збагачених залізом

Продуцент	Компонент поживного середовища	Концентрація у ПС, г/л	Ціна компонента, грн/кг	Вартість компонента (грн) на 1 л середовища	Джерело інформації (1, 2, 3)*
1	*2*	*3*	*4*	*5*	*6*
Saccharomyces cerevisiae 11B1	Пептон	10	1320	13,2	1
	Дріжджовий екстракт	5	1 849	9,24	2
	Глюкоза	10	24	0,24	3
	$Fe(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$	0,2	100	0,02	4
		Вартість 1 л середовища – 22,7			
Saccharomyces cerevisiae ZYF-15	Глюкоза	80	24	1,92	3
	Пептон	5	1320	6,6	1
	Дріжджовий екстракт	10	1 849	18,49	2
	Сульфат заліза	1,6	29	0,0464	3
		Вартість 1 л середовища – 27,056			
Saccharomyces cerevisiae (штам не вказаний)	Декстроза	10	24	0,24	3
	Пептон	5	1320	6,6	1
	Дріжджовий екстракт	3	1 849	5,54	2
	Солодовий екстракт	3	89	0,267	1
	Сульфат заліза	0,497	29	0,0144	3
		Вартість 1 л середовища – 12,66			
Saccharomyces cerevisiae (штам не вказаний)	Декстроза	10	24	0,24	3
	Пептон	5	1320	6,6	1
	Дріжджовий екстракт	3	1 849	5,54	2
	Солодовий екстракт	3	89	0,267	1
	Сульфат заліза	0,025	29	0,0007	3
		Вартість 1 л середовища – 12,65			

Примітка. * – *Ціни наведено станом на грудень 2023 р. 1 – https://prom.ua/ua/, 2 – https://starko.com.ua/, 3 – https://www.systopt.com.ua, 4 – https://flagma.ua/uk/*

Таблиця 3.3

Умовна вартість одного грама біомаси дріжджів збагачених залізом

Біологічний агент	**Концентрація біомаси, г/л**	**Тривалість культивування, год**	**Кількість утвореної біомаси за годину, г/год**	**Вартість 1 л середовища грн/л**	**Умовна вартість 1 г цільового продукту, грн/г**
1	*2*	*3*	*4*	*5*	*6*
Saccharomyces cerevisiae 11B1	9,2	20	0,46	22,7	2,46
Saccharomyces cerevisiae ZYF-15	11	30	0,37	27,056	2,46
Saccharomyces cerevisiae (штам не вказаний)	0,265	12	0,022	12,66	47,77
Saccharomyces cerevisiae (штам не вказаний)	0,35	12	0,029	12,65	36,14

3.3. Огляд ринку цільової (аналогічної) продукції.

Всесвітня організація охорони здоров’я відносить залізодефіцитну анемію до третьої провідної причини втрачених років життя з поправкою на непрацездатність для жінок дітородного віку і серед 10 найпоширеніших захворювань для чоловіків у віковій групі 15–44 роки (*Shaw, & Friedman, 2011*).

Дефіцит заліза коливається від станів дефіциту заліза без анемії до більш важких станів з екстремальними гематологічними проявами, які відповідають найбільш клінічно важкому сценарію (*Liberal, & Barros, 2020*).

Глобальна поширеність дефіциту заліза без анемії залишається невизначеною, хоча запропонована цифра принаймні вдвічі перевищує показники залізодефіцитної анемії. Проблема стає ще більш актуальною, якщо взяти до уваги функціональний дефіцит заліза, який виникає, коли залізо майже не мобілізується із запасів, як при хронічних запаленнях/інфекціях або коли

енергійне розширення еритропоезу екзогенним або ендогенним еритропоетином викликає гостру диспропорцію між попит і пропозиція заліза (*Camaschella, 2019*).

За останні два десятиліття було розроблено кілька форм добавок заліза для лікування залізодефіцитної анемії. На даний момент дослідження більш спрямовані на дію цих добавок у відновленні крові, а побічні ефекти, такі як запалення кишечника, залишаються маловивченими.

Серед пероральних препаратів заліза, що використовуються в клінічній практиці переважно застосовують традиційні препарати, такі як $FeSO_4$, сукцинат заліза, фумарат заліза, глюконат заліза, гліцин заліза, але всі вони мають специфічний запах заліза, нестабільність, низьку біодоступність і схильність до дієтичного табу, токсичність вільного заліза, шлунково-кишковий дискомфорт та інші симптоми (*Chen та ін., 2024*).

На фармацевтичному ринку України представлений доволі широкий асортимент препаратів, які спрямовані на запобігання розвитку залізодефіцитної анемії у людей.

Таблиці 3.4

Порівняльна таблиця наявних на фармацевтичному ринку України препаратів для профілактики ЗДА

Назва препарату	**Ціна, грн**	**Діюча речовина**	**Кількість діючої речовини, мг**	**Форма випуску**	**Побічні ефекти**	**Джерело інформації (1, 2, 3)***
Тардиферон	197	Заліза (II) сульфат сесквігідрат	80	Таблетки	Біль у животі, нудота, діарея або запор.	1
Феррофол	300	Заліза (III) гідроксид	100	Таблетки жувальні	Діарея, нудота, диспепсія, біль у животі, блювання, запор	1

Закінчення таблиці 3.4

Хеферол	260	Фумарат заліза	115	Капсули	Біль в епігастрії, нудота, блювання, діарея, висипи, свербіж	1
Ферніксил	355	Глюконат заліза	42	Таблетки	Запор та діарея	2
Iron Double Strength	246	Бігліцинат заліза	36	Капсули	–	2
Сорбіфер Дурулес	182	Сульфат заліза	100	Таблетки	Дискомфорт у животі, блювання, порушення сну, головний біль, слабкість, втомлюваність.	2
Дріжджі пивні з залізом	39	Сульфат заліза	1	Таблетки	–	3
Iron Ferrous Sulfate	348	Сульфат заліза	65	Таблетки	–	4
Gentle Iron	626	Бісгліцінат заліза	25	Капсули	–	4

Примітка.* – *Ціни наведено станом на травень 2024 р. 1 – https://apteka911.ua/ua/shop/, 2 – https://tabletki.ua/uk/, 3 – https://apteka911.ua/ua/, 4 – https://dobavki.ua/ua/.*

Хоча анемія часто досліджується у певних групах, таких як жінки в період вагітності та діти, ризик виникнення цього стану у чоловіків зростає. У чоловіків існують кілька факторів, які сприяють ризику розвитку анемії, включаючи їх етнічну приналежність. Дослідження показують, що вік вважається більшим фактором ризику розвитку ЗДА для чоловіків, ніж для жінок.

Причини дефіциту заліза в організмі чоловіків можуть бути різноманітні. Абсолютний дефіцит заліза може виникати внаслідок підвищеної фізіологічної потреби в залізі, недостатнього споживання цього мікроелемента, порушень у процесі всмоктування заліза або хронічної крововтрати, а також через постійний стрес та перевантаження.

Залізодефіцитна анемія також може мати функціональну природу, коли, незважаючи на наявність достатніх запасів заліза, воно не вбудовується в еритроїдні попередники. Ця патологія часто спостерігається в умовах інфекційних, запальних та злоякісних захворювань, де можлива порушена метаболіка заліза (*Sheikh, та ін., 2021*).

Відповідно до рекомендацій Міністерства охорони здоров'я України добові потреби заліза наведені у таблиці 3.5 (*https://moz.gov.ua/*).

Таблиці 3.5

Рекомендовані дієтичні норми заліза

Вік	**Стать**	
	Чоловік, мг на добу	**Жінка, мг на добу**
Від народження до 6 місяців	0,27	0,27
7-12 місяців	11	11
1-3 роки	7	7
4-8 років	10	10
9-13 років	8	8
14-18 років	11	15
19-50 років	8	18
51+ років	8	8

Розрахунок річної потреби в біологічно активній добавці з дріжджами, збагаченими залізом, розглянемо на прикладі покриття потреби для декількох бригад військовослужбовців, які зараз захищають суверенітет та незалежність України. Станом на січень 2024 року, за даними Президента України, армія налічує близько 880 тисяч військовослужбовців (*https://fakty.com.ua/ua/*).

Для оцінки потреби в даній добавці розглянемо споживання для п'яти бригад. Середня чисельність однієї бригади становить 4000 військовослужбовців. Рекомендована добова норма заліза для дорослого чоловіка становить приблизно 8-11 мг, залежно від віку та фізичного стану.

Припустимо, що в умовах підвищеного фізичного та емоційного навантаження військовослужбовців, добова потреба в залізі складає 12 мг.

Тоді загальна добова потреба в залізі для 5 бригад буде складати:

$$20\ 000 \text{ осіб} \cdot 12 \text{ мг} = 240\ 000 \text{ мг} = 240 \text{ г}$$

Добавка приймається через місяць, тобто 6 місяців у році (через кожний другий місяць).

Розрахуємо річну потребу:

Кількість днів на рік, коли приймається добавка:

$$6 \text{ місяців} \cdot 30 \text{ днів} = 180 \text{ днів}.$$

Річна потреба в залізі для 5 бригад:

$$240 \text{ г} \cdot 180 \text{ днів} = 43{,}200 \text{ г} = 43{,}2 \text{ кг}.$$

Таким чином, річна потреба в залізі для п'яти бригад, за умови, що добавка приймається через місяць, складає 43,2 кг.

Таблиці 3.6

Вихідні дані для розрахунку річної потреби в залізі

Доза діючої речовини на добу, мг заліза	**Тривалість прийому, днів на рік**	**Кількість препарату на одну людину, мг**	**Загальна кількість військовослужбовців**	**Річна потреба в залізі, кг**
12 (1капсула)	180	2 160	20 000	43,2

3.4. Розрахунок річної потужності виробництва.

Обраний біологічний агент *Saccharomyces cerevisiae* 11B1 накопичує 48,01 мг Fe/г сухої біомаси та утворює 9,2 г/л біомаси (*Nowosad, & Sujka, 2021*).

Кількість біомаси, необхідної для забезпечення річної потреби в залізі, становить:

$$43\ 200 \text{ г} / 0{,}04801 \text{ г/г} = 899\ 813 \text{ г}$$

Об’єм культуральної рідини, необхідної для отримання 899 813 г біомаси дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* 11B1, становить:

$$899\ 813 \text{ г} / 9{,}2 \text{ г/л} = 97\ 806 \text{ л} = 97{,}806 \text{ м}^3$$

З урахуванням втрат цільового продукту при виділенні (20%), необхідно отримати таку кількість культуральної рідини:

$$V_{кр} = 97{,}806 \text{ м}^3 / (1 - 0{,}20) = 122{,}26 \text{ м}^3$$

Приймемо кількість робочих трудоднів ($Т_{рд}$) 50, тоді кількість продукту на добу ($V_д$) становитиме:

$$V_д = V_{кр}/Т_{тр} = 122,26 \text{ м}^3 / 50 = 2,45 \text{ м}^3$$

Кількість цільового продукту за цикл становитиме:

$$V_{кр} = (К_1 \cdot V_д \cdot Т_{цф})/24 = (1,1 \cdot 2,45 \cdot 26)/24 = 2,92 \text{ м}^3/\text{цикл},$$

де $Т_{цф}$ – цикл роботи ферментера (мийка та огляд – 1,5 год, перевірка на герметичність – 0,5 год, підігрів та стерилізація апарату – 1,5 год, охолодження ферментера – 0,5 год, завантаження поживного середовища – 1,5 год, засів культурою – 0,5 год та ферментація – 20 год).

Наступним етапом розраховуємо геометричний об’єм ферментера:

$$V_г = V_{цк} / К_{зап} = 2,92/0,6 = 4,87 \text{ м}^3.$$

Обираємо за таблицею ферментер з геометричним об’ємом у 5 м^3.

Уточнюємо коефіцієнт заповнення:

$$К_{зф} = V_{цк}/V_ф = 2,92/5 = 0,58.$$

Уточнений коефіцієнт заповнення перебуває у вибраних межах, отже геометричний об’єм ферментера вибрано вірно.

РОЗДІЛ 4. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ПІСЛЯФЕРМЕНТАЦІЙНИХ ПРОЦЕСІВ ОТРИМАННЯ СУБСТАНЦІЇ

Виділення та очищення дріжджів, збагачених залізом включає наступні стадії технологічного процесу:

- Відокремлення біомаси;
- Очищення клітин;
- Розведення відмитих клітин;
- Сушіння біомаси;
- Фасування;
- Маркування;
- Зберігання.

4.1. Обґрунтування вибору післяферментаційних процесів отримання біомаси залізозбагачених дріжджів.

4.1.1. Вибір способу відокремлення біомаси

Відділення біомаси від культуральної рідини є важливим кроком у багатьох біотехнологічних процесах, оскільки воно дозволяє отримати чистий продукт та повторно використовувати культуральне середовище. Існує декілька методів відділення біомаси, кожен з яких має свої переваги та недоліки. Вибір методу залежить від розмірів частинок, фізико-хімічних властивостей суспензії та необхідної чистоти кінцевого продукту. Основні методи включають сепарування, центрифугування, фільтрацію, осадження, флотацію та інші (*Горова, & Федотов, 2012*).

Сепарування та центрифугування здійснюють поділ біомаси під дією відцентрових сил. Ці методи найчастіше використовуються для відділення дріжджів або бактерій у біотехнологічному виробництві. Центрифугування застосовується при щільності часток від 400 до 900 нм, тоді як ультрацентрифугування ефективне для часток розміром від 10 нм до 1 мкм.

Центрифугування також використовується для виділення вірусів, клітинних органел та високомолекулярних сполук. Незважаючи на високу ефективність, цей метод вимагає дорогого обладнання та значних енергетичних витрат. Однак він необхідний, коли суспензія фільтрується занадто повільно, потрібно максимально звільнити культуральну рідину від частинок або забезпечити безперервний процес сепарації (*Данилов, & Самійленко, 2008*).

Фільтрація полягає у пропусканні суспензії через фільтруючий матеріал під дією різниці тисків. Рідина проходить через пори і збирається у вигляді фільтрату, тоді як тверді частинки залишаються на фільтрі. Цей метод широко використовується у виробництві антибіотиків, особливо коли мікроорганізм-продуцент має міцеліальну структуру. Фільтрація може бути мікрофільтрацією, яка утримує частинки розміром від 200 нм до 10 мкм, або ультрафільтрацією, яка затримує частинки розміром від 10 нм до 5 мкм і навіть великі молекули розчинених речовин. Недоліком фільтрації є налипання клітин на фільтрі, що знижує швидкість фільтрації (*Мацай, 2011*).

Осадження (седиментація) – це метод поділу біомаси під дією гравітаційних сил або за рахунок агрегації частинок. Цей процес використовують для частинок діаметром більше трьох мікрометрів. Однак швидкість осадження частинок є дуже низькою (10^{-6} і 10^{-7} м/с). Для прискорення процесу додають спеціальні коагулянти, такі як казеїн або желатин, які сприяють агрегації і осадженню частинок. Перевагою седиментації є її простота і низька вартість, але тривалість процесу може бути значною, що є її головним недоліком (*Лихач, 2016*).

Флотація полягає у захопленні біомаси бульбашками піни і виділенні її з пінної фракції. Цей метод використовує поверхневі властивості частинок, а не їх розмір. В діапазоні розмірів частинок від 1 до 200 мкм флотація дозволяє ефективно відокремлювати біомасу.

Піну, що складається з бульбашок газу з прилиплими до них клітинами, зціджують, відкачують або зіскрібають. Ефективність відбору біомаси у вигляді концентрованої суспензії підвищується шляхом спінювання рідини з наступним

відділенням її верхнього шару (*Мацай, 2011*).

Таблиця 4.1.

Порівняльна характеристика методів відділення біомаси

Метод відділення	Переваги	Недоліки
Фільтрація	По мірі накопичення зішкрібання біомаси, очищуючи фільтрат.	Великі втрати біомаси, що проходить через фільтр, нестерильність процесу.
Сепарація, центрифугування	Клітини не забруднені фільтратом, автоматизація процесу, високий ступінь осушування, велика продуктивність.	Енергоємність процесу, зношування шнека та ротора.
Мікрофільтрація, ультрафільтрація	Висока ефективність концентрування біомаси.	Високі швидкості у напірному каналі, що травмує клітини, налипання і закупорювання мембрани.
Коагуляція	Швидкість процесу.	Поява досить об'ємних осадів з високою (до 99 %) вологістю, які необхідно утилізувати, вплив коагулянтів на клітини.
Флотація	Можливість безперервного процесу, економічність.	Неефективність, велика втрата біомаси, волога біомаса.

Проаналізувавши всі методи та враховуючи аспекти виробництва біологічно активної добавки для відокремлення біомаси дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* від культуральної рідини було обрано метод сепарації з декількох важливих причин, що роблять цей метод найбільш ефективним і практичним у порівнянні з іншими доступними методами.

Сепаратори забезпечують безперервний процес відділення біомаси, що є значною перевагою у промислових масштабах виробництва. Можливість безперервної роботи дозволяє обробляти великі обсяги культуральної рідини з високою продуктивністю, що знижує загальні витрати на обробку і підвищує ефективність виробничого процесу. Також сепаратори дозволяють досягти високого ступеня чистоти відокремленої біомаси, що є важливим аспектом для

подальшого використання дріжджів у виробництві біологічно активної добавки для людей, де чистота кінцевого продукту має ключове значення. Використання сепаратора дозволяє мінімізувати кількість залишкових домішок у біомасі, забезпечуючи високу якість продукту.

Сучасні сепаратори мають високий рівень автоматизації, що спрощує їх використання та обслуговування. Автоматизація дозволяє точно контролювати процес відділення, що підвищує його надійність та стабільність. Це також знижує потребу в ручному втручанні, що мінімізує ризик помилок і підвищує загальну ефективність.

Для проведення процесу сепарування дріжджів було обрано асептичний сепаратор GEA Pharma C 100 з продуктивність 1800 – 3700 л/год, що підходить для відокремлення біомаси від культуральної рідини та очищення клітин від залишків середовища за заліза з клітинної стінки дріжджів.

Рис. 4.1. Асептичний сепаратор GEA Pharma C 100

Він має ряд особливостей та переваг:

- Висока ефективність розділення, функції очищення та простота контролю процесу;
- Висока продуктивність сепарації;
- Делікатне поводження з продуктом;
- Автоматичний SIP;
- Автоматичний CIP (*https://www.gea.com/en/*).

4.1.2. Очищення клітин

Промивання клітин дріжджів дистильованою водою є необхідним етапом у виготовленні біологічно активної добавки, оскільки під час культивування залізо може акумулюватися як у середині клітин, зв'язуючись з макромолекулами, так і на зовнішній поверхні клітин. Накопичення заліза на клітинній стінці може мати негативні наслідки, які впливають на якість та безпеку біомаси (*Nowosad, & Sujka, 2021*).

Накопичення заліза на поверхні клітин може призвести до зміни фізичних та хімічних властивостей біомаси, що може вплинути на її розчинність та стабільність. Це, у свою чергу, може змінити функціональні властивості клітинних компонентів, які використовуються в добавці, і вплинути на її біологічну активність. Крім того, надлишок заліза може бути токсичним для організму людини, особливо для осіб з порушеннями обміну заліза або захворюваннями, пов'язаними з його надлишком.

Також залізо може вступати в небажані хімічні реакції з іншими компонентами біологічно активної добавки, що може призвести до утворення шкідливих сполук або зниження ефективності продукту (*Monteagudo-Mera ma ін., 2023*).

Промивання клітин дріжджів дистильованою водою допомагає ефективно видалити надлишок заліза з поверхні клітин, мінімізуючи негативні наслідки. Дистильована вода, не містить домішок та сприяє ретельному очищенню клітинної стінки (*Tafazzoli, & Khosravi-Darani, 2023*).

Отже, промивання клітин дріжджів дистильованою водою є необхідним етапом для забезпечення високої якості та безпеки біологічно активної добавки, що дозволяє мінімізувати негативний вплив заліза, накопиченого на клітинній стінці, забезпечуючи стабільність, активність та безпеку кінцевого продукту.

4.1.3. Розведення відмитих клітин

Розведення відмитих клітин є критично важливим етапом підготовки біомаси до сушіння. Цей процес відіграє ключову роль у забезпеченні високої якості кінцевого продукту, зокрема шляхом досягнення однорідного розподілу клітин у суспензії. Рівномірний розподіл клітин запобігає утворенню агломератів

та нерівномірному висиханню, що може призвести до термічного пошкодження клітин. Така рівномірність гарантує, що кожна клітина піддається однаковому впливу тепла та має однаковий час висихання, що сприяє отриманню однорідного продукту з високою якістю (*Luna-Solano, & García-Alvarado, 2005*).

Крім того, розведення дозволяє досягти оптимальної в'язкості суспензії, яка є критичною для ефективного процесу сушіння. Занадто густі або в'язкі розчини можуть створювати проблеми під час сушіння, що призведе до нерівномірного розподілу частинок та утворення великих крапель, які не встигатимуть висохнути належним чином. Натомість оптимальна в'язкість суспензії забезпечує формування дрібних крапель під час сушіння, що сприяє швидкому і рівномірному висиханню. Це особливо важливо для збереження біологічної активності та функціональних властивостей кінцевого продукту (*Ahi, & Goodarzi, 2010*).

Розведення також зменшує механічний вплив на клітини, мінімізуючи ризик їх пошкодження під час сушіння. Завдяки цьому забезпечується стабільність біомаси, що є важливим для збереження її біологічної активності та функціональних властивостей (*Zarei, & Hamzeh-Mivehroud, 2016*).

Враховуючи всі ці аспекти, розведення відмитих клітин перед етапом сушіння є необхідним. Воно забезпечує рівномірний розподіл клітин та правильну в'язкість суспензії, сприяючи ефективному процесу сушіння та збереженню стабільності біомаси. В результаті отримується однорідний і високоякісний кінцевий продукт, що відповідає вимогам якості та безпеки. Таким чином, розведення відмитих клітин є важливим кроком, який забезпечує оптимальні умови для досягнення бажаних характеристик кінцевого продукту в процесі сушіння біомаси.

Розведення відмитих клітин перед сушінням є необхідним етапом, який забезпечує оптимальні умови для отримання якісної біомаси з бажаними характеристиками. Це гарантує ефективність сушіння, збереження стабільності біомаси та відповідність кінцевого продукту вимогам якості та безпеки.

4.1.4. Вибір способу сушіння

Більшість продуктів мікробіологічного синтезу випускаються у сухому вигляді з залишковою вологістю не більше 5-12%. Традиційні методи видалення вологи, такі як фільтрація, флотація та випаровування, не дозволяють досягти такого ступеня зневоднення. Тому сушіння є необхідним етапом у виробництві мікробіологічних продуктів.

Основним промисловим способом отримання готових форм мікробіологічних продуктів синтезу є термічна сушка при атмосферному тиску, під вакуумом або під глибоким вакуумом, при температурах в інтервалі від –30 до +60 °С (*Гуляєв, 2019*).

Сушіння – це процес видалення вологи з твердих та рідких матеріалів (продуктів, препаратів). Здійснюється за допомогою сушильних установок різного типу (*Горова, & Федотов, 2012*).

Сушіння біомаси може здійснюватися у розпилювальних, сублімаційних та вакуумних сушарках (*Kothawade та ін., 2024*).

Сушіння розпиленням є добре відомим методом виробництва частинок, який полягає в перетворенні рідкого матеріалу на висушені частинки, використовуючи переваги газоподібного гарячого середовища сушіння. Механізм розпилювальної сушки заснований на видаленні вологи з використанням нагрітої атмосфери, якій піддається продукт. Процес можна описати трьома основними фазами: розпилення, перетворення краплі в частинку та збирання частинок.

Сушіння розпиленням є широко використовуваним методом як у харчовій, так і у фармацевтичній промисловості. Він передбачає розпилення розчину на краплі розміром 20–300 мкм, які потім піддають дії гарячого сухого повітря для швидкого випаровування води. Теплоносій поступово надходить знизу через направляючу насадку з високою швидкістю. Завдяки великій поверхні контакту, високим швидкостям руху частинок матеріалу та сушильного агента, сушіння біомаси відбувається дуже швидко.

Розпилювальна сушарка, забезпечуючи безперервний процес із високою продуктивністю, дозволяє швидко і легко висушувати розчини, перетворюючи

їх на ідеально подрібнений сухий продукт. При поєднанні маси із теплоносієм волога відразу випаровується, а частинки охолоджуються, тому, незважаючи на високі температури теплоносія на виході та вході, продукт не нагрівається більше ніж на 35–40 °С (*Santos & Gomes, 2018*).

Цей метод підходить для отримання сухих порошків з хорошою розчинністю та здатністю до диспергування. Сушіння розпиленням забезпечує високу якість кінцевого продукту, але він може не підходити для термочутливих матеріалів.

Ліофільна сушка, також відома як ліофілізація, — це метод сушіння матеріалів, який передбачає заморожування матеріалу та подальше видалення вологи під зниженим тиском (*Kothawade та ін., 2024*).

Сублімаційне сушіння передбачає перехід твердої речовини безпосередньо у газоподібний стан шляхом нагрівання, оминаючи стадію рідини. Проведення сублімаційного сушіння під вакуумом дає змогу знизити температуру процесу.

Переваги цього типу сушіння:

- волога видаляється поступово при низьких температурах, що майже повністю виключає термоінактивацію продукту;
- зберігається стабільна структура матеріалу (*Лобова, & Гуменюк, 2021*).

Вакуумне сушіння — це спосіб сушіння матеріалів шляхом видалення вологи при зниженому тиску (*Kothawade та ін., 2024*).

Вакуум-сушильні шафи призначені для сушіння нетермостійких матеріалів. Процес відбувається за кімнатної температури, або підвищеної температури, яку витримує матеріал.

Сушіння відбувається періодично. В шафу на полиці закладають вологий матеріал, створюють вакуум, починають обігрівання шафи парою через порожнини в плитах, або електричним струмом. Процес закінчують, коли матеріал матиме певну залишкову вологість, після чого готовий сухий матеріал вивантажують (*Гуляєв, 2019*).

Таблиця 4.2

Порівняльна характеристика методів сушіння та їх характеристика

Метод сушіння	Недоліки	Переваги
Конвективне сушіння (розпилювальна сушарка)	Високі енергетичні витрати, висока температура може пошкодити термочутливі речовини.	Швидке та економічне сушіння, висока продуктивність, отримання дрібнодисперсного порошку, безперервний процес, простий у використанні.
Контактне сушіння (вакуумна сушарка)	Висока вартість обладнання, низька швидкість сушіння та труднощі контролю процесу сушіння, обмежена місткість.	Збереження термочутливих речовин та біологічної активності, однорідність продукту за вологістю, низькі енерговитрати.
Сублімаційне сушіння (ліофілізація)	Необхідність ретельної підготовки препарату до сушки, створення високого вакууму для повноти висихання, тривалість сушіння і досить високі енерговитрати	Збереження максимальної кількості термочутливих речовин та біологічної активності, висока якість та тривалий термін зберігання продукту.

Підсумовуючи знайдену інформацію про методи сушіння біомаси, можна зробити висновок, що в нашому випадку найоптимальнішим варіантом буде використання розпилювальної сушарки. Оскільки даний метод забезпечує ефективне висушування біомаси, що є ключовим аспектом для отримання необхідних характеристик кінцевого продукту. Розпилювальна сушарка дозволяє швидко і легко висушувати розчини, перетворюючи їх на ідеально подрібнений сухий продукт завдяки безперервному процесу з високою продуктивністю.

Під час сушіння розчини перетворюються на дрібні частинки розміром приблизно 60-70 мкм, що важливо для забезпечення однорідності та стабільності сухого продукту. Таким чином, використання розпилювальної сушарки забезпечує не лише ефективне висушування, а й досягнення необхідних характеристик сухого продукту, що робить цей метод оптимальним вибором для даного виробництва.

Для процесу сушіння було обрано високошвидкісну відцентрову розпилювальну сушарку LPG-2000 від компанії *Changzhou Jinqiao Spray Drying and Engineering Co., Ltd.*, Китай. Вона використовує високошвидкісне відцентрове розпилення для розпилення матеріалу в гаряче повітря, швидко випаровуючи вологу. Основні характеристики включають високий вихід продукту (95-99,9%), змінні методи нагрівання (пара, електрика або паливо), вміст вологи в кінцевому продукті становить 2-5%, номінальна випаровуваність води до 2000 л/год. Ця сушильна машина виготовлена з високоякісної нержавіючої сталі, що забезпечує як довговічність, так і відповідність санітарним нормам. Може бути застосовна у таких галузях виробництва – харчова, фармацевтична, хімічна (*https://www.jqspray.com*).

Рис.4.2. Високошвидкісна відцентрова розпилювальна сушарка LPG-2000.

4.2. Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіях

Підбір технологічного обладнання представлений у таблиці 4.3.

Вихідні дані:

- Об’єм культуральної рідини (КР) з однієї ферментації = 2,92 м^3.
- Концентрація цільового продукту у КР = 48,01 мг Fe/г АСБ (1 289,74 г/цикл).
- Концентрація біомаси у КР = 9,2 г/л (26 864 г/цикл)
- Втрати (у %) на стадіях виділення цільового продукту = 20%: початкова кількість біомаси, яка поступає з КР складає 2 920 л × 9,2 г/л = 26 864 г; кінцева кількість (з урахуванням 20% втрат) має становити 21 491 г.

Таблиця 4.3

Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіях

№ п/п	Назва стадії (операції)	Матеріальні потоки на стадії	Кількість по стадіях			Необхідне обладнання
			Надійшло	Втрати, Разом 20 %	Вийшло	
1	*2*	*3*	*4*	*5*	*6*	*7*
ДР 1. Зберігання культуральної рідини						
1	ДР 1.1. Зберігання культуральної рідини	Культуральна рідина	2,92 $м^3$	-	2,92 $м^3$	Збірник об’ємом 4 $м^3$
ТП 2. Відділення біомаси						
2	ТП 2.1 Сепарування культуральної рідини	Культуральна рідина	2,92 $м^3$			Сепаратор продуктивністю 1800 – 3700 л/год
		Біомаса	179,1 л (2,92 $м^3$ · 9,2 / 0,15)	8,95 л (5%)	170,2 л (179,1 л – 8,95 л)	
		Супернатант	2 740 л (2,92 $м^3$ – 0,18 $м^3$)	-		
ТП 3. Очищення клітин						
3	ТП 3.1 Промивання клітин	Біомаса	170,2 л			Збірник об’ємом 2 $м^3$
		Вода дистильована	4,89 $м^3$ (1,63 $м^3$ одне промивання · 3 рази)		4,89 $м^3$	
		Відмита біомаса	170,2 л	2,55 л (1,5 % за одне промивання)	162,54 л (170,2 – 2,55 · 3)	Сепаратор продуктивністю 1800 – 3700 л/год

Закінчення таблиці 4.3

ТП 4. Сушіння біомаси						
4	ТП 4.1. Розведення відмитих клітин	Відмита біомаса	162,54 л	-		Збірник об’ємом 2 $м^3$
		Вода дистильована	1,56 $м^3$			
		Розведений розчин клітин	1 722,54 л (162,54 + 1 560)		1 722,54 л	
5	ТП 4.2. Сушіння в розпилювальній сушарці	Розведений розчин клітин	1 722,54 л			Розпилювальна сушарка, з продуктивністю по випареній вологі до 2000 л/год
		Суха біомаса	23,878 кг (1 722,54 л – 86 %)	2,387 (10 %)	21,491 (24,878 – 2,387)	

4.3. Специфікація обладнання

Специфікація обладнання

Таблиця 4.4

Позиція	Найменування	Кількість	Технічна характеристика (виробник)
1	*2*	*3*	*4*
ПЗ–1	Повітрозабірник	1	Забірник повітря, розташований на висоті 11 метрів над рівнем даху, обладнаний металевою сіткою для захисту від потрапляння механічних забруднень.
В-2	Вентилятор високого тиску	1	Вентилятор високого тиску. Продуктивність – 2640-6320 м^3/год, матеріал – вуглецевасталь, частота обертів – 3000 об/хв,тиск 0,3 Мпа. Виробник: «Київський вентиляторний завод», Україна[1]
Ф-3	Фільтр грубої очистки повітря	1	Панельний фільтр грубої очистки повітря Macrogen GT Duo від ТМ «MANN+HUMMEL» (Німеччина). Продуктивність – до 5000 м³/год, матеріал – поліуретан. Розрахований на тиск до 2 МПа.[2]
Ф-4	Головний фільтр очистки повітря	1	Фільтр для тонкого очищення стисненого повітря OMI HF 0030 ¾ (ТМ «OMI», Італія). Продуктивність – до 3000 л/хв, максимальний тиск – 16 бар, ступінь фільтрації – 0,01 мкм. Розміри: 280×90 мм, 6 карманів, пропускна здатність – 3 м³/год.[3]
КА-5	Калорифер	1	Теплообмінник PARAWELD. Складається з пари спаяних пластин, які використовуються в лазерно-спаяному процесі. Можливий варіант матеріалу пластини: AISI 316, AISI 904L, 254 SMO, Hastelloy, C2000, титан і нікель. Робоча температура -45°C до +250°C. -45°C до +250°C. ТМ: «ТАПФЛО». Країна: Україна[4]
Н-6 Н-8 Н-14	Відцентровий насос	6	Герметичний відцентровий насос з магнітною муфтою КМ 70 з поліпропілену або фторопласта. Продуктивність 1,0 - 65 м^3/год. Температурні параметри середовища, що перекачується від +3 до +95 ºС. Виробник: «DEBEM», Італія[5]
З-7	Збірник для зберігання культуральної рідини	1	Об’єм апарату – 4 м^3 ; матеріал – нержавіюча сталь 316L; частота обертання якірної мішалки – 50 об/хв.; витримує тиск – 0,6 МПа; Розмір (д×ш×в, мм): 2630× 2320×5360. Виробник: «ГК Єврохіммаш К.О.», Україна[6]

Закінчення таблиці 4.4

С-9	Сепаратор	1	Асептичний сепаратор GEA Pharma C 100 з високоякісної нержавіючої сталі. Продуктивність 1800 – 3700 л/год. Частота обертання до 6000 об./хв. Виробник: «GEA», Німеччина[7]
Н-10 Н-12	Насос перистальтичний	2	Насос PTL17 має продуктивність у діапазоні від 129 до 908 л/год, працює при температурі до 135 ºС і тиску до 4 бар. Торгова марка: «ТАПФЛО». Країна виробник: Україна.[8]
З-11	Збірник для зберігання супернатанту	1	Збірник об'ємом – 10 м^3; матеріал – нержавіюча сталь AISI 316L. Розмір (д×ш×в, мм): 2600× 2600×4020. Виробник: «ГК Єврохіммаш К.О.», Україна[9]
З-13	Збірник для розведення біомаси	1	Об'єм апарату – 2,5 м^3 ; матеріал – нержавіюча сталь 316L; частота обертання якірної мішалки – 50 об/хв.; витримує тиск – 0,6 МПа; 2740 мм, діаметр - 2 030. Виробник: «ГК Єврохіммаш К.О.», Україна[6]
РС-15	Розпилювальна сушарка	1	Високошвидкісна відцентрова розпилювальна сушарка LPG-2000 з високоякісної нержавіючої сталі. Температура повітря на вході 100-550 ° С. Номінальна випаровуваність води до 2000 л/год. Кінцевий вміст вологи в продукті 2-5%. Виробник: «JQSPRAY», Китай[10]
ПЄ-16	Пересувна ємність	1	Фармацевтичний бін AGIERRE з нержавіючої сталі AISI 316L. Об'єм – 50 л. Виробник: «AGIERRE», Італія[11]

Примітка: *1. https://ventzavod.com/en/ventilator/vc-7-15-8-2/*

2. https://www.directindustry.com/prod/mann-hummel-vokes-air/product-63410-1670462.html,

3. https://tapflo.ua/ua/products-2/teploobmenniki#spetsialne-vikonannya

4. *https://sm-tools.com.ua/ua/p108764-filtr_tonkoy_ochistki_szhatogo_vozduha_omi_hf_0030_3-4_04a-0180-hg00-h-0000*

5. https://www.debem.com.ua/ukr/nasos/km/km_70/,

6. https://euromash.kiev.ua/ua/aparati_emal_mehanicheskim_perem_ustroystvom_ua.php

7. https://www.gea.com/en/products/centrifuges-separation/centrifugal-separator/clarifier/pharma-separator-aseptic-c/

8. https://tapflo.ua/products/hose-pumps/seriya-ptl#tekhnichni-dani

9. https://euromash.kiev.ua/ua/sborniki_emal_ua.php

10. https://www.jqspray.com/Product/LPG-High-Speed-Centrifugal-Spray-Dryer.html

11. https://www.agierre.eu/public/index.php?node=43&subpg=catalogo-prodotti-view&idntree=3&idprod

РОЗДІЛ 5. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ВИДІЛЕННЯ І ОЧИЩЕННЯ СУБСТАНЦІЇ

Технологічна схема післяферментаційного виділення та очищення біомаси дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* 11В1, збагачених залізом включає як допоміжні роботи (зберігання культуральної рідини та підготовка сушильного агента) так і технологічний процес (зберігання культуральної рідини, видалення біомаси, очищення клітин, сушіння біомаси, фасування, маркування та зберігання). Технологічну схему одержання сухої біомаси наведено в графічній частині проєкту.

ДР 1. Зберігання культуральної рідини

ДР 1.1. Зберігання культуральної рідини

По завершенню виробничого процесу культуральну рідину об'ємом 3,11 м^3 за допомогою відцентрового насоса (Н-6) направляють в збірник об'ємом 4 м^3 (З-7), де відбувається зберігання розчину при температурі 20 °С з періодичним перемішуванням при 50 об/хв.

ДР 2. Підготовка сушильного агента

ДР 2.1. Забір атмосферного повітря

Забір атмосферного повітря здійснюють за допомогою вентилятора (В-2) через вертикальну трубу з повітрезабірником (ПЗ-1) у найвищій точці виробничого обладнання Н = 11 м (3 м над рівнем найвищої будівлі).

ДР 2.2. Очистка атмосферного повітря

Очистка повітря відбувається шляхом проходження повітря крізь два тканинні фільтри, перший фільтр грубого очищення (Ф-3), та через головний фільтр (Ф-4), ступінь очищення повітря після проходження даних фільтрів становить 95 %.

ДР 2.3. Нагрівання сушильного агента

Для забезпечення необхідної температури повітря після фільтрів подають на калорифер (КА-5) де відбувається нагрівання сушильного агента до температури 100 ºС. Нагріте повітря подається в розпилювальну сушарку.

ТП 3. Відділення біомаси

ТП 3.1. Сепарування культуральної рідини

Культуральна рідина (*від ДР 1.1*) з збірника (З-7) за допомогою відцентрового насоса (Н-8) подається в сепаратор (С-9), де відбувається процес сепарування при 4 000 об/хв, тривалістю 60 хв. Отриманий супернатант за допомогою перистальтичного насоса (Н-10) направляють в збірник (З-11) об'ємом 10 м^3, для зберігання.

ТП 4. Очищення клітин

ТП 4.1 Промивання клітин

Осаджену біомасу (*від ТП 3.1*) об'ємом 181,2 л за допомогою перистальтичного насоса (Н-10) направляють в збірник об'ємом 2 м^3 (З-13), в який за допомогою лічильника води що міститься в системі подають 1,71 м^3 води дистильованої. Після внесення води вмикають перемішуючий пристрій (50 об/хв) для рівномірного розподілу компонентів, в подальшому даний розчин направляють за допомогою відцентрового насоса (Н-14) до сепаратора (С-9) де відбувається виділення біомаси. Супернатант перистальтичним насосом (Н-10) подають в збірник (З-11), а виділену біомасу повторно промивають. Процес повторюється тричі.

ТП 5. Сушіння біомаси

ТП 5.1. Розведення відмитих клітин

Виконавши промивання біомаси, осаджені клітини з сепаратора (С-9) об'ємом 173,1 л за допомогою перистальтичного насосу (Н-10) направляють в збірник об'ємом 2 м^3 (З-13), через лічильник вносять 1,7 м^3 води дистильованої та вмикають перемішуючий пристрій (50 об/хв), для розведення розчину до концентрації клітин не більше 15 г/л. Приготований розчин зберігають в збірнику до подальшого використання.

ТП 5.2. Сушіння в розпилювальній сушарці

Розчин відмитих клітин (*від ТП 5.1*) з збірника (З-13) за допомогою відцентрового насоса (Н-14) подається до розпилювальної сушарки (РС-15), де відбувається його сушіння при температурі 80°С до залишкової вологи 5 %. В якості сушильного агента використовується нагріте повітря (*від ДР 2.3*). В процесі сушіння порошок подається в пересувну ємність (ПЄ-16), в якій відбувається зберігання до подальшого використання.

РОЗДІЛ 6. ТЕХНОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ОТРИМАННЯ ГОТОВОГО ПРОДУКТУ З СУБСТАНЦІЇ

Кінцевим продуктом біотехнологічного виробництва є біологічно активна добавка на основі дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* збагачених залізом для профілактики залізодефіцитної анемії у людей.

Одним із ключових факторів, що впливає на ефективність залізовмісних біологічно активних добавок, є здатність організму засвоювати залізо. Незважаючи на високу біодоступність заліза з залізозбагачених дріжджів, необхідність підвищення ефективності цього процесу обумовлює додавання до складу інших компонентів, які сприяють поглинанню заліза організмом людини.

Одним з інгредієнтів, що покращує засвоєння заліза, є аскорбінова кислота. Цей ефект значною мірою пояснюється її здатністю відновлювати залізо (III) до заліза (II), а також здатністю хелатувати залізо (*Nowosad, & Sujka, 2021*).

Аскорбінова кислота функціонує як кофактор, ферментний компонент, косубстрат і потужний антиоксидант у різних реакціях і метаболічних процесах. Вона стабілізує вітамін Е та фолієву кислоту та покращує засвоєння заліза. Вітамін С нейтралізує вільні радикали та токсини, а також послаблює запальну реакцію. Людина не здатна синтезувати вітамін С, тому може отримати його лише з фруктами, овочами та лікарськими засобами (*Abdullah, & Attia, 2023*).

Добова потреба у вітаміні С різна для людей і залежить від віку, статі, ваги, фізичної активності, таких звичок, як паління, а також загального стану здоров'я. Вважається, що добова потреба для жінок становить близько 75 мг, для чоловіків - 90 мг. Додаткові 35 мг на день необхідні для курців, а також різні кількості для пацієнтів з різними захворюваннями (*Kontoghiorghes, & Polyakov, 2020*).

Всмоктування заліза відбувається переважно в дванадцятипалій кишці та верхній частині тонкої кишки, звідки двовалентне залізо може транспортуватися в епітеліальні клітини слизової оболонки тонкої кишки.

При прийомі всередину залізо завжди окислюється до стану Fe^{3+} з початкової форми. Для його адекватного розчинення для всмоктування потрібне кисле шлунково-кишкове середовище. Вітамін С може створити більш кисле середовище в шлунку і запобігти окисленню заліза (*Li, & Wang, 2020*).

Вживання аскорбінової кислоти разом із пероральним залізом може в рази збільшити всмоктування. Аскорбінова кислота має дозозалежний ефект посилення абсорбції заліза при молярному співвідношенні ≥2:1 (наприклад, 60 мг аскорбінової кислоти: 10 мг заліза). Цей підсилювальний ефект відбувається головним чином завдяки люмінальному відновленню заліза, а також через його здатність хелатувати залізо та утримувати його від зв'язування з поліфенолами та фітатами (*Stoffel, & Zimmermann, 2020*).

Загалом додавання аскорбінової кислоти до складу біологічно активної добавки значно покращує засвоєння заліза завдяки своїм хелатуючим властивостям та здатності відновлювати залізо до більш біодоступної форми. Крім того, створення кислого середовища в шлунку сприяє підтримці оптимальних умов для поглинання заліза. Дозозалежний ефект аскорбінової кислоти підсилює абсорбцію заліза, роблячи добавку ефективним засобом для профілактики залізодефіцитної анемії.

Додатковою перевагою є часткове покриття добової потреби у вітаміні С, що позитивно впливає на загальний стан організму, підтримуючи антиоксидантний захист, покращуючи метаболічні процеси та сприяючи здоров'ю споживачів.

6.1. Обґрунтування вибору форми та упаковки лікарського засобу

Аналіз ринку фармацевтичних препаратів для профілактики залізодефіцитної анемії показує, що основними формами випуску є таблетки, капсули та жувальні таблетки. Враховуючи їхню зручність у застосуванні, тривалий термін зберігання, контрольоване дозування та відповідність споживчому попиту (*https://compendium.com.ua/uk/atc/b03a/page*).

Проте кожна з цих форм має свої специфічні переваги і недоліки, які важливо врахувати під час вибору форми випуску біологічно активної добавки на основі залізозбагачених дріжджів.

6.1.1. Обґрунтування форми випуску

Пероральний шлях є найпоширенішим шляхом введення ліків, оскільки він є найзручнішим і простим у використанні, що робить його першим вибором для клініцистів і більшості пацієнтів. Загалом пероральні препарати вважаються дешевшими, ніж препарати, призначені для інших шляхів (*Rodríguez-Pombo, & Goyanes, 2022*).

Таблетки є спресованою твердою лікарською формою, що містять активні компоненти, доповнені допоміжними речовинами або без них. Вони мають різноманітні форми та значно відрізняються за розміром і масою, що залежить від кількості активних речовин і способу введення (*Ubhe, & Gedam, 2020*).

Для виробництва таблеток можна використовувати різні методи, включаючи пряме пресування, вологе гранулювання та сухе гранулювання. У сучасних процесах виробництва таблеток використовуються передові технології, такі як безперервне виробництво та технологія аналізу процесів, для підвищення якості, ефективності та економічності. Незважаючи на значний прогрес у виробництві таблеток, все ще існують певні проблеми у складанні таблеток і проектуванні процесу (*Chen, & Luo, 2024*).

Таблетки є стандартною формою ліків, яка забезпечує високу точність дозування та мінімальне відхилення у вмісті активних речовин, що робить їх надійним вибором серед пероральних лікарських форм. Вони відрізняються простотою та низькою вартістю упаковки й зберігання, а також легкістю й компактністю, що надає зручності у використанні. Завдяки високій хімічній і мікробній стабільності таблетки мають тривалий термін придатності й оптимально підходять для великомасштабного виробництва.

Таблетки легко ковтати, вони майже не мають можливості до зависання у стравоході, а також можуть замаскувати неприємний запах і гіркий смак за допомогою спеціального покриття. Крім того, вони можуть бути розроблені з

кишковорозчинним покриттям для уповільненого вивільнення, що забезпечує поступове надходження активних речовин в організм. Загалом, таблетки є найбільш широко використовуваними твердими пероральними лікарськими формами через переваги самостійного введення, стабільність, легкість поводження, транспортування (*Sohail та ін., 2021, Ubhe, & Gedam, 2020*).

Проте вони мають певні недоліки, які можуть обмежити їх застосування в деяких випадках. Їх важко ковтати маленьким дітям і пацієнтам без свідомості, що може ускладнити їх використання в цих групах. Деякі препарати через аморфність або низьку щільність важко ущільнити до необхідної компактної форми, що створює труднощі у формуванні таблеток. Ліки з поганою розчинністю, низькою здатністю до зволоження або високими вимогами до концентрації в шлунково-кишковому тракті важко формувати у вигляді таблеток, які б забезпечили достатню біодоступність.

Гіркі препарати, ліки з неприємним запахом або ті, що чутливі до кисню, потребують додаткової інкапсуляції або покриття для маскування їх властивостей або захисту від окислення. У таких випадках капсули можуть бути економічно вигідним варіантом. Крім того, деякі тверді речовини, такі як аспірин, здатні подразнювати слизову оболонку шлунково-кишкового тракту. Також можуть виникати проблеми з біодоступністю внаслідок повного розпаду та розчинення (*Ubhe, & Gedam, 2020*).

Жувальні таблетки є пероральними лікарськими формами, призначеними для розжовування, а потім проковтування пацієнтом, а не ковтання цілком. Фармакопеї США розрізняє два типи жувальних таблеток: ті, які можна розжувати для зручності прийому, і ті, які необхідно розжувати або подрібнити перед ковтанням, щоб уникнути задухи та/або забезпечити вивільнення активного інгредієнта (*Rodríguez-Pombo, & Goyanes, 2022*).

Це тверді композиції, виготовлені подібно до звичайних таблеток шляхом ущільнення, формування або екструзії (*Patil, & Jain, 2024*). Вони забезпечують зручний засіб доставки ліків, що відкриває нові можливості для їх використання у певних групах населення, таких як педіатрія та диференційовані фармацевтичні

продукти, а також на інших ринках охорони здоров'я, таких як продукти харчування, нутрицевтики та ветеринарні препарати (*Nyamweya, & Kimani, 2020*).

Технологія виробництва жувальних таблеток розрізняє їх на тверді та м'які жувальні таблетки. Тверді жувальні таблетки готують пресуванням, а м'які жувальні таблетки зазвичай виготовляють процесом формування або екструзії.

Вони розроблені таким чином, щоб плавно розпадатися у роті під час жування або без нього, характеризуються приємним смаком і гладкою консистенцією після розпаду, без гіркого чи неприємного присмаку. Ці лікарські форми особливо цінні для літніх та педіатричних пацієнтів, а також для людей у русі, які можуть не мати негайного доступу до води. Рецептура жувальних таблеток включає важливі фактори, такі як текучість, змащування, розпад, органолептичні властивості, стисливість, сумісність і стабільність. У той час як ці фактори поділяються на таблетки, які регулярно ковтають, акцент на сенсорних аспектах активних лікарських речовин, відомих як органолептичні властивості, стає основною проблемою в жувальних композиціях. Розробники рецептів використовують різні підходи для досягнення оптимального поєднання формули та процесу, віддаючи пріоритет розробці продукту зі сприятливими органолептичними властивостями. Такий акцент на смаку та текстурі робить жувальні таблетки цінним варіантом для підвищення прихильності до лікування, особливо серед груп населення, які стикаються з проблемами, пов'язаними з ковтанням (*Patil, & Jain, 2024*).

Однією з головних переваг жувальних таблеток є їх придатність для прийому пацієнтами з проблемами ковтання, такими як літні та педіатричні пацієнти та ті, хто страждає на дисфагію, покращуючи їх прийнятність до лікування. Ще однією перевагою є відсутність необхідності вводити їх разом з водою, що робить їх використання зручним для прийому пацієнтом. Крім того, коли вони розпадаються в ротовій порожнині, частина препарату розчиняється в слині і, як наслідок, всмоктується через ротову порожнину, уникаючи ефекту першого проходження та збільшуючи біодоступність препарату. Крім того,

жувальні таблетки не обмежені розміром, оскільки вони призначені для розжовування перед проковтуванням.

З точки зору недоліків, може бути складним завантажувати жувальні композиції лікарськими засобами, які мають неприємний або гострий смак (наприклад, гіркий смак) без додавання великої кількості підсолоджувачів і ароматизаторів. Жувальні таблетки також гігроскопічні, тому їх варто зберігати в сухому місці в герметичних контейнерах. Крім того, за повідомленнями, ці препарати пов’язані з інцидентами, пов’язаними з пошкодженням зубів або поломкою зубних протезів внаслідок надмірної твердості таблетки та подразнення стравоходу (*Rodríguez-Pombo, & Goyanes, 2022*).

Капсули є універсальною лікарською формою, яка забезпечує зручність та ефективність використання. Це тверда лікарська форма, де активна речовина укладена в тверді або м'які розчинні контейнери. У капсулах можуть бути поміщені порошкоподібні, рідкі або напівтверді лікарські маси, що робить їх адаптивними для різних типів препаратів. Зазвичай капсули призначені для перорального застосування, коли їх ковтають цілими, але іноді можуть використовуватися ректально або вагінально (*Begum, & Susmitha, 2018*).

Капсули – це зручна форма лікарських препаратів. Вони мають багато переваг. Наприклад, капсули приховують неприємний смак і запах ліків, тому їх легко проковтнути. Завдяки гладкій поверхні, капсули легко ковзають по горлу, особливо якщо запити їх водою. Їхній зовнішній вигляд також привабливий. Крім того, для виробництва капсул потрібно менше допоміжних речовин, ніж для таблеток. Оболонки капсул фізіологічно інертні, легко і швидко засвоюються в шлунково-кишковому тракті. Капсули також є економічним варіантом і їх зручно носити з собою. Деякі капсули мають спеціальне покриття, яке захищає ліки від світла.

Недоліками капсул є те, що гігроскопічні ліки можуть поглинати вологу з капсули, роблячи її крихкою, що робить такі препарати непридатними для капсул. Також концентровані розчини, які потребують попереднього розведення,

непридатні для капсул, тому що введені в такому вигляді вони призводять до подразнення шлунка (*Srividya, & Reddy, 2014*).

Капсули складаються з желатинової (твердої або м'якої) і нежелатинової оболонок, як правило, отриманих шляхом гідролізу колагену (кислотний, лужний, ферментативний або термічний гідроліз) тваринного походження або на основі целюлози (*Prakash, & Sarma, 2017*).

Желатин є основним компонентом капсул і був матеріалом, з якого їх традиційно виготовляли. Желатин був обраною сировиною через здатність розчину гелеподібно утворювати тверду речовину при температурі трохи вищій за помірні умови навколишнього середовища, що дозволяє швидко утворювати однорідну плівку на штифті форми.

Причиною цього є те, що желатин має такі основні властивості:

- Він нетоксичний, широко використовується в харчових продуктах і прийнятний для використання в усьому світі.
- Добре розчинний у біологічних рідинах при температурі тіла.
- Це хороший плівкоутворюючий матеріал, що створює міцну гнучку плівку
- Желатинові плівки мають однорідну структуру, що надає їм міцності (*Srividya, & Reddy, 2014*).

Незважаючи на те, що обидва типи капсул виглядають однаково, між ними є кардинальні відмінності. Найбільш помітна відмінність полягає в матеріалі, з якого кожен з них виготовляється. Желатинові капсули виготовляються за допомогою процесу, який передбачає відварювання певних частин тварин (великої рогатої худоби та свиней). Копита, кістки та сполучну тканину кип'ятять до гелеподібної речовини, а потім охолоджують і розширюють у прохолодній воді. Після завершення процесу залишається лише речовина без смаку, запаху та кольору, з якої можна сформувати гелеві капсули, які споживачі приймають щодня. Основна перевага гелевих ковпачків полягає в тому, що вони, як правило, дешевші, ніж їхні вегетаріанські аналоги.

Багато людей не люблять приймати цей вид капсул з різних причин. Це може бути пов’язано з їх релігійною приналежністю, яка не дозволяє їм споживати ці види або частини тварин. Це також може бути просто тому, що людина є вегетаріанцем і не хоче споживати тварин у будь-якій формі, особливо коли мова йде про прийом ліків. Іншим недоліком желатинових капсул є те, що вони не залишаються стабільними при впливі тепла або вологості. Якщо споживачі проживають в особливо жаркому місці, у них можуть виникнути проблеми зі зберіганням желатинових капсул (*Hota, & Mishra, 2018*).

Проблеми з коров’ячим сказом, релігійні дієтичні обмеження щодо продуктів на основі свинини, уподобання споживачів до здорових овочевих продуктів і занепокоєння правами тварин призвели до попиту на оболонки капсул нетваринного походження. Враховуючи суворі вимоги до обробки, коли оболонки капсул повинні безперебійно працювати на тих самих комерційних наповнювальних машинах, що й желатинові капсули, і вимоги до доставки ліків до оболонок капсул, було важко знайти економічно ефективні альтернативи оболонкам желатинових капсул. Незважаючи на ці труднощі, зараз на ринку доступний ряд альтернатив желатину, але розробити ці продукти було нелегко (*Hoag, 2017*).

Гідроксипропілметилцелюлоза – це полімер на основі целюлози, отриманий з рослинних джерел, який широко застосовується у фармацевтичних продуктах як допоміжна речовина у капсулах та інших рецептурах, ефективно усуваючи більшість недоліків желатину. Вона відповідає міжнародним стандартам та є безпечною для споживання людиною відповідно до Регламенту ЄС № 1333/2008.

Завдяки своїм властивостям, ГПМЦ використовується для розробки різних систем доставки лікарських засобів. Вибір молекулярної маси та в’язкості дозволяє використовувати її для емульгування, адгезії, зв’язування, згущення, суспензії, а також для створення плівок і гелів. Цей полімер утримує воду, що робить його чудовим гідрофільним гелеутворювачем. При контакті з водою він гідратується на поверхні, утворюючи желатиновий шар, який набухає і

розширюється. Спочатку ГПМЦ забезпечує швидке вивільнення лікарського засобу, після чого утворюється в'язкий гель для подальшого контрольованого вивільнення (*Guarve, & Kriplani, 2021*).

Переваги капсул з гідроксипропілметилцелюлози (ГПМЦ):

- Виготовлено з напівсинтетичного матеріалу на основі целюлози, що робить їх придатними для вегетаріанців та людей з певними релігійними дієтичними обмеженнями.
- Не синтезує амінокислот, тому не взаємодіє із допоміжними речовинами, виключаючи ризик зшивання.
- Підходять для різноманітних наповнювачів, у тому числі для альдегідних груп.
- Легко розчиняються, утворюючи колоїдний розчин, завдяки оборотному термічному гелеутворенню.
- Сумісний з багатьма фармацевтичними допоміжними речовинами та активними інгредієнтами (АФІ).
- Гладка текстура забезпечує рівномірне нанесення покриття для модифікованого вивільнення.
- Капсули ГПМЦ легко ковтаються, як і желатинові капсули.
- Стійкі до температурних і вологих умов, вода не є пластифікатором для ГПМЦ.
- Без консервантів, алергенів, крохмалю та глютену .
- Підходять для продукції з органічною сертифікацією.
- Утворюють контрольовану гнучку плівку для надійної форми капсули.
- Швидке розчинення та ефективність вивільнення діючих речовин аналогічно желатиновим капсулам (*Majee, & Biswas, 2017*).

Вибір капсул для біологічно активної добавки на основі залізобагачених дріжджів є оптимальним рішенням, зважаючи на низку переваг капсульної форми. Капсули можуть ефективно маскувати смак і запах залізозбагачених дріжджів, що забезпечує зручність їх прийому, а також забезпечує надійний

захист активних компонентів від впливу зовнішніх факторів, таких як світло і волога, зберігаючи їх біологічну активність і стабільність.

Використання капсул із гідроксипропілметилцелюлози (ГПМЦ) дає важливі переваги. Цей матеріал є рослинним, інертним і легко засвоюваним, що робить такі капсули ідеальними для людей із певними харчовими потребами, зокрема для вегетаріанців і веганів. Це особливо важливо, оскільки саме вегетаріанці та вегани є однією з групою із найбільшою схильністю організму до залізодефіцитної анемії через недостатнє споживання гемового заліза з тваринних продуктів.

Крім того, капсули з ГПМЦ відповідають потребам осіб, які дотримуються особливих релігійних поглядів, оскільки не містять компонентів тваринного походження, що робить їх прийнятними для багатьох релігійних груп. Завдяки цим властивостям вибір капсул із гідроксипропілметилцелюлози для залізобагаченої добавки є обґрунтованим і забезпечує поєднання зручності, високої біодоступності та відповідності етичним і релігійним переконанням споживачів.

6.1.2. Обґрунтування вибору упаковки

Упаковка є важливою складовою, оскільки дозволяє ідентифікувати продукт і виділити його серед інших, що має значення на всіх етапах – від виробництва до кінцевого споживача.

Основна функція упаковки – захист лікарських засобів від впливу зовнішнього середовища та збереження їх у безпеці до моменту використання. Вона захищає продукт протягом усього терміну придатності від псування, витоку, росту мікроорганізмів, забруднень та інших негативних чинників. Упаковка має бути зручною у використанні, передбачати просте відкриття та закриття, що сприяє дотриманню режиму лікування.

Для підвищення безпеки деякі види упаковки розробляються з функціями захисту від дітей або захисту від фальсифікації. Пакувальні матеріали повинні зберігати продукт від впливу світла, сторонніх часток, змін температури, атмосферних газів, мікроорганізмів та вологи. Важливо, щоб матеріали

захищали фармацевтичний продукт від вимивання, втрати летких речовин або зміни вмісту вологи. Також упаковка повинна запобігати механічним пошкодженням, таким як удар, стиснення, стирання, вібрація та прокол.

Важливою вимогою до пакувальних матеріалів є їх хімічна інертність, яка запобігає реакції з продуктом, забезпечуючи його безпеку та стабільність протягом усього терміну придатності (*Ciotea, & Popa, 2019, Amarji, & Tekade, 2018).*

Пластик, скло і метал є основними матеріалами, які широко застосовуються для пакування фармацевтичних продуктів. Залежно від типу препарату, необхідного рівня захисту, придатності методу наповнення, потреби в стерилізації, сумісності між препаратом і пакувальним матеріалом, зручності для пацієнта та вартості упаковки, ці матеріали (окремо або в комбіновані) є основними компонентами для виготовлення основного контейнера.

Скляна тара дуже часто використовується для зберігання фармацевтичної продукції. Скляні контейнери зазвичай є першим вибором для продуктів перорального та парентерального введення (скляні пляшки для сиропів, розчинів, суспензій, таблеток, а також для одноразових або багатодозових ін'єкцій). Залежно від вимог до продукту використовуються різні типи скляних матеріалів. Скло в основному складається з неорганічного матеріалу (наприклад, кремнезему) або його суміші з іншими матеріалами, такими як оксид кальцію, оксид алюмінію, оксид натрію, оксид бору, оксид барію, оксид магнію та оксид калію. Різні типи скляних контейнерів доступні в різних кольорах (*Amarji, & Tekade, 2018*).

Скляна тара широко використовується у фармацевтиці завдяки багатьом перевагам. Вона непроникна для водяної пари та повітря, що дозволяє надійно захистити чутливі речовини. Скляна упаковка доступна в різних розмірах і формах, забезпечує достатню механічну міцність і жорсткість. Її прозорість дозволяє легко бачити вміст, що корисно для контролю якості та зберігання. Крім того, скло витримує високі температури і тиск під час стерилізації, а можливість герметичного друку забезпечує додатковий захист.

Однак, скляна тара має певні недоліки. Її велика вага збільшує витрати на транспортування, а крихкість призводить до ризику пошкодження під час обігу. Крім того, скло може вимивати луги у водні розчини, якщо не піддається належній хімічній обробці, що може вплинути на якість деяких лікарських засобів (*Nasa, 2014*).

Метал широко використовується як пакувальний матеріал для фармацевтичних контейнерів за рахунок високої стійкості до перепадів температури. Серед металів, що застосовуються для цього, виділяють алюміній, олово та свинець. Металеві контейнери можуть виготовлятися з одного матеріалу або комбінації металів, що дозволяє надійно захистити фармацевтичні продукти в різних умовах.

Найчастіше їх використовують для непарентеральних лікарських форм, таких як туби, балончики, блістери та аерозольні і газові балони. Перевагами металевої упаковки є міцність, непроникність для вологи та газів, а також стійкість до екстремальних температур. Водночас вони мають деякі обмеження — високу вартість і можливість реакцій з певними хімічними речовинами. Найінертнішим серед металів вважається олово, яке часто використовується для внутрішньої обшивки контейнерів. Також застосовуються полімерні покриття та скляні обшивки для додаткової хімічної стабільності (*Pandey, & Singh, 2023, Amarji, & Tekade, 2018*).

Пластмаси – це синтетичні високомолекулярні полімери, чутливі до впливу температури. Проте сучасні технології дозволяють використовувати в упаковці фармацевтичної продукції обмежений набір пластикових матеріалів, які характеризуються високою термостійкістю та здатністю до стерилізації. До таких матеріалів належать полівінілхлорид, полівініліденхлорид, полістирол, поліпропілен, полікарбонат і поліетилентерефталат та ін.

Залежно від поведінки при нагріванні пластмаси поділяються на дві групи.

- Термопластичний тип – при нагріванні вони стають в’язкою рідиною, а при охолодженні повертаються до початкової твердості, наприклад, поліетилен, поліпропілен, полівінілхлорид, полістирол, нейлон

(поліамід), полікарбо2нат, акрилові мультиполімери, поліетилентерефталат.

- Термореактивний тип – при нагріванні вони можуть стати гнучкими, але не стають рідкими, зазвичай їх форма зберігається аж до температури розкладання. Через високий ступінь зшивання вони зазвичай тверді та крихкі при кімнатній температурі. наприклад, фенолформальдегід, формальдегід меламіну (*Pandey, & Singh, 2023*).

Використання пластику у фармацевтичній упаковці має низку переваг, включаючи легкість виготовлення, доступність численних типів якості, свободу дизайну та надзвичайну стійкість до пошкоджень. Пластикова упаковка є дуже гнучкою та адаптованою формою упаковки, яка дозволяє виробникам адаптувати її форму, розмір і стиль відповідно до вимог своїх клієнтів. Вони також є надзвичайно легкими альтернативами для зберігання, які не вимагають багато місця для зберігання; це робить їх відносно легкими для транспортування, що опосередковано зменшує їхній вуглецевий слід. Крім того, пластикова упаковка може витримувати екстремальні навколишні умови та не легко руйнуватись при високих і низьких температурах, таким чином зберігаючи цілісність продуктів усередині. Також захищає пластикова упаковка ліки від тепла, пилку, пилу, світла та запахів. Пластик неймовірно міцний і стійкий до зовнішнього тиску, що гарантує, що вироби завжди добре зберігаються.

Крім того, висока міцність пластику дозволяє швидко використовувати його повторно та переробляти. Сьогодні компанії створюють спеціалізовані машини, які виробляють пластикову упаковку з оптимізованою придатністю до переробки. Міцність пластикової упаковки також дозволяє виробникам друкувати привабливі високоякісні нестандартні дизайни, таким чином підвищуючи видимість продукту в торгових площах. Економічна ефективність пластикової упаковки є перевагою для виробників дрібносерійної продукції, оскільки вона забезпечує доступ до стандартних варіантів упаковки, незважаючи на менший бюджет (*Sabee, & Hamid, 2021*).

Для виготовлення пластикових банок зазвичай використовуються такі матеріали, як поліетилентерефталат, поліпропілен та іноді поліетилен (*Dillingh, & Smith, 2015*).

Поліетилен є одним із найпоширеніших матеріалів, які використовують у фармацевтичній пластиковій упаковці, завдяки своїм унікальним властивостям, які забезпечують надійний захист лікарських засобів. Полімер широко використовується у виробництві флаконів, контейнерів, кришок та інших елементів упаковки, що відповідає суворим вимогам якості та безпеки.

Класифікація поліетилену базується на його щільності, яка визначає механічні, фізико-хімічні характеристики матеріалу та сферу його використання. У фармацевтичній промисловості пропонуються три основні види поліетилену: поліетилен низької щільності, лінійний поліетилен низької щільності і поліетилен високої щільності.

Поліетилен низької щільності характеризується м'якістю, гнучкістю, стійкістю до проколів і хімічною інертністю. Основними обмеженнями є висока газопроникність, низька міцність на розрив, розтріскування під впливом зовнішнього середовища та низька стійкість до ультрафіолету.

Лінійний поліетилен низької щільності має кращі механічні властивості завдяки коротшим бічним ланцюгам. Він демонструє високу міцність, проте залишається менш жорстким і термостійким, ніж поліетилен високої щільності.

Поліетилен високої щільності є найжорсткішим і найкристалічнішим серед поліетиленів, забезпечуючи чудовий бар'єр для вологи й міцність, але має низьку прозорість і схильність до розтріскування під впливом навколишнього середовища.

Поліпропілен – це термопластичний полімер із метильною групою в молекулі, що забезпечує йому високу термостійкість, міцність і хімічну інертність. Найпоширеніша ізотактична форма має більшу жорсткість порівняно з поліетиленом, високу температуру плавлення (160°C) і стійкість до вологи. Основними недоліками поліпропілену є крихкість при низьких температурах, низька стійкість до окислення та необхідність точного контролю температури під

час термоформування. Він широко вимагає у фармацевтичній та пакувальній промисловості для контейнерів, лотків, пляшок і плівок, завдяки його міцності, вологостійкості та здатності до стерилізації.

Поліетилентерефталат – це конденсаційний полімер, утворений реакцією двох кислот (наприклад, терефталевої кислоти або диметилтерефталевої кислоти) і двоспирту (наприклад, етиленгліколю). Він пропонує багато переваг для застосування в пакуванні, таких як висока міцність, легкість, чудова міцність, прозорість і хімічна стійкість, а також є хорошим бар'єром для рідини та газу. Його також можна використовувати для виготовлення банок різного кольору та зовнішнього вигляду (*Sabee, & Hamid, 2021*).

Проаналізувавши варіанти первинної упаковки, було вирішено обрати пластикову банку з поліетилентерефталату як найоптимальніший варіант для капсул із біологічно активною добавкою на основі залізобагачених дріжджів, розробленою для військовослужбовців. Пластикова банка забезпечує надійний захист капсул від вологи, повітря та інших зовнішніх факторів, що сприяє збереженню стабільності заліза й активності препарату протягом усього терміну придатності.

Легкість і ударостійкість пластикової упаковки значно спрощують транспортування й забезпечують зручність у використанні, що особливо важливо для військових у польових умовах, де ризик механічних уражень підвищується. Крім того, пластикові контейнери є економічно вигідними й дозволяють виробляти тару різних форм і розмірів, що полегшує адаптацію під конкретні потреби військових.

Пластикова тара для капсул – це не лише зручний, а й екологічно доцільний вибір, оскільки сучасні технології дозволяють створювати пластикові контейнери, які піддаються вторинній переробці. Більше того, виробники постійно вдосконалюють технології виробництва пластикової тари, створюючи матеріали, які ще легше переробляються та мають менший вплив на довкілля.

Таким чином, пластикова банка забезпечує не лише ефективний захист добавки, але й відповідає критеріям зручності, безпеки й довговічності продукту,

що робить його ідеальним вибором для використання в умовах військової служби.

Для запобігання пошкодженню первинної упаковки використовують вторинне пакування, яке призначене для виконання двох цілей: одна – для захисту лікарського засобу, а друга – для захисту первинної упаковки. Вторинний пакувальний матеріал ніколи не контактує з продуктом, який він містить. Ця упаковка є видимою для споживача і, отже, містить необхідну інформацію, таку як маркування з назвою, напрямком використання, інгредієнтами тощо. Контейнер для вторинної упаковки виконує деякі функції, наприклад захист основного пакувального матеріалу, і відіграє ключову роль у транспортуванні продукту від виробника до споживачів. Загальні приклади контейнерів вторинної упаковки включають демонстраційну коробку, картонну коробку, пластикові ящики тощо (*Amarji, & Tekade, 2018*).

Враховуючи вибір первинної упаковки – пластикової банки з поліетилентерефталату вторинною упаковкою було обрано картонну коробку, яка забезпечує захист від механічних пошкоджень, мінімізує ризик впливу зовнішніх факторів під час транспортування та зберігання, що важливо для збереження цілісності пластикової банки та її вмісту. Крім того, картон є екологічно чистим матеріалом, що відповідає сучасним вимогам стійкості до навколишнього середовища. Додатково, на коробці можна надрукувати необхідну інформацію для споживача для зручності та прозорості в обігу товару (*Pal, & Singh, 2024*). Упаковка виготовляється з картону і підбирається відповідно до розмірів банки, щоб капсули в пластиковій банці зручно поміщалися в картонну коробку.

6.2. Обґрунтування технологічних особливостей одержання лікарського засобу

Біологічно активна добавка у формі капсул належить до твердих лікарських форм, призначених для перорального застосування. Це дозволяє віднести продукт до категорії нестерильних лікарських засобів, що спрощує вимоги до стерильності виробництва. Оптимальним рішенням для організації

виробництва є використання приміщень класів чистоти C та D, відповідно до стандартів належної виробничої практики.

Допоміжні процеси, такі як підготовка компонентів, зважування, а також підготовка первинної упаковки, можуть проводитися у приміщеннях класу чистоти D. Водночас ключові етапи технологічного процесу, включаючи отримання суміші для капсулювання і капсулювання, повинні здійснюватися у приміщеннях класу чистоти C, що забезпечує належний рівень захисту продукту від контамінації.

6.2.1. Вимоги до персоналу та одягу

Правильне виробництво лікарських засобів значною мірою залежить від рівня підготовки персоналу. Забезпечення достатньої кількості кваліфікованих працівників є відповідальністю виробника, адже саме персонал виконує ключові завдання, пов’язані з дотриманням стандартів якості та належної виробничої практики.

Кожен працівник повинен мати чітко визначені обов’язки, які мають бути зрозумілими та задокументованими. Весь персонал має бути обізнаним із принципами належної виробничої практики, що впливають на їхню роботу, а також пройти початкову та регулярну підготовку, включаючи навчання з гігієнічних вимог, відповідно до специфіки їхніх функцій. Такі заходи знижують ризик контамінації продукту та сприяють підтриманню високого рівня якості на кожному етапі виробництва (*Scheme, 2009*).

Персонал, який займається виробництвом, обробкою, пакуванням або зберіганням лікарських засобів, зобов'язаний носити чистий одяг, що відповідає його службовим обов’язкам. Він повинен використовувати захисний одяг, включаючи покриття для голови, обличчя, рук та ніг, щоб запобігти забрудненню лікарських засобів мікроорганізмами та частинками, які утворюються тілом. Працівники повинні дотримуватися належних санітарних та гігієнічних звичок. Для забезпечення цього необхідно використовувати спеціальний одяг, який запобігає забрудненню, а також підтримувати чистоту та гігієну на всіх етапах виробництва.

Захисний одяг, рукавички, а також інструменти повинні бути стерильними та дезінфікованими, щоб уникнути сторонніх мікроорганізмів на виробничих лініях. Вся робоча зона, зокрема виробничі приміщення, складські приміщення, а також блоки завантаження та розвантаження, має бути оснащена відповідним гігієнічним спецодягом. Особливу увагу необхідно приділяти регулярному дезінфікуванню рукавичок та своєчасній заміні порваних або пошкоджених компонентів захисного одягу.

Навчання персоналу щодо важливості гігієни та правильного використання спеціалізованого одягу є обов'язковим. Одяг не можна використовувати поза межами виробничих приміщень, зокрема в їдальні, туалетах чи на місцях для паління. Важливо також організувати правильне прання робочого одягу, яке має здійснювати лише уповноважений підрядник або спеціалізоване підприємство, що відповідає галузевим стандартам. Процес прання має забезпечувати ефективне очищення, належне розділення брудного та чистого одягу, а також його постійну перевірку та вдосконалення відповідно до вимог гігієни. Очищений одяг повинен постачатися у чистих мішках або чохлах, щоб підтримувати високі стандарти гігієни на всіх етапах обробки.

Весь персонал, що бере участь у виробничих процесах, повинен пройти медичний огляд, що є необхідною умовою для забезпечення безпечних умов праці. Працівникам, які відчувають погіршення самопочуття або мають відкриті рани чи шкірні інфекції, забороняється входити на виробничі приміщення. Ті, хто приймає ліки від серйозних захворювань, також не повинні перебувати на території установи і повинні повідомляти про свій стан керівнику відділу або зацікавленим особам.

Працівники, які працюють з матеріалами, що є біологічно активними, повинні бути забезпечені засобами захисту, такими як біологічні безпеки шафи, костюми та рукавички для рук. Всі запроваджені системи контролю мають продемонструвати свою ефективність та відповідати встановленим стандартам безпеки. Для цього необхідно впровадити програми екологічного моніторингу та постійно здійснювати ефективний моніторинг виробничих процесів, щоб

гарантувати безпеку та гігієнічні умови на всіх етапах роботи (*Shenvi, & Shabaraya, 2021*).

6.2.2. Дезінфікуючі засоби

У фармацевтичних приміщеннях класів чистоти C і D важливим аспектом забезпечення належного рівня стерильності є використання дезінфікуючих засобів. Ці приміщення використовують для технологічних процесів, які допускають певну кількість частинок і мікроорганізмів, проте вимагають регулярного контролю та профілактики забруднення.

Для застосування дезінфікуючих засобів вони повинні відповідати наступним критеріям:

- Широкий спектр антимікробної активності. Ефективність проти бактерій, грибів, спор і вірусів. Це забезпечує мінімізацію ризику контамінації на різних етапах виробничих процесів.
- Сумісність із матеріалами поверхонь. Засоби не повинні пошкоджувати підлогу, стіни, стелю або обладнання, які повністю покриті епоксидними фарбами, полівінілхлоридом або іншими матеріалами.
- Відсутність залишків. Дезінфікуючі засоби повинні легко змиватися або деградувати без утворення залишків, які можуть бути використані на виробництві.
- Ротація дезінфікуючих засобів. Регулярна зміна хімічних засобів запобігає розвитку стійких мікроорганізмів.
- Безпечність для навколишнього середовища. Дезінфікуючі засоби повинні бути біорозкладними та не виробляти речовини, які можуть завдати шкоди екосистемам або сприяти забрудненню водних ресурсів.
- Захист від корозії. Засіб не повинен мати корозію металевих поверхонь або обладнання, що є для підтримки тривалого терміну експлуатації обладнання.
- Простота зберігання. Дезінфікуючі засоби повинні бути стійкими до зміни температури і вологості при зберіганні, а також не потребувати складних умов для збереження їх ефективності.

- Ідентифікація з маркуванням. Етикетка має написати чіткі дані про склад, спектр антимікробної дії, рекомендовані дози, спосіб застосування та запобіжні заходи для забезпечення правильного використання.
- Швидке висихання. Засіб має забезпечити висихання без залишкових слідів на поверхнях, що є критичним місцем для чутливого обладнання.
- Універсальність. Повинен підходити для використання як на твердих, так і на м'яких поверхнях, включаючи текстиль, пластик, метал та гуму (*Rutala, & Weber, 2014*).

Вибір дезінфікуючого засобу для чистих приміщень — це багатофакторний процес, який враховує його ефективність проти мікроорганізмів, особливості поверхонь і безпеку використання. Важливим є тестування засобів в умовах, наближених до реального використання, з урахуванням концентрації, способу застосування та часу контакту. Ефективність дезінфікуючого засобу потребує регулярної перевірки на основі даних екологічного моніторингу, впливу засобу на матеріали поверхонь і змін у мікрофлорі приміщення (*Sandle, 2014, Sandle, 2021*).

Для санітарної обробки у виробничих умовах обрано два ефективні засоби: мийний із дезінфікуючим ефектом «КлінДез 401» («Clean&Dez 401») з гіпохлоритом натрію (50%, вміст активного хлору 5,0–9,0%) та дезінфекційний мийний «Чистолайн-Універсал» із 2-феноксіетанолом (1,0%). «КлінДез 401» забезпечує дезінфекцію та ефективно видаляє забруднення завдяки антикорозійним і стабілізуючим добавкам, а також ПАР, не пошкоджуючи матеріали. «Чистолайн-Універсал» проявляє антимікробну активність проти бактерій, грибів і вірусів, а також має виражені миючі властивості (*https://data.gov.ua/dataset/reestr_dezzasobiv_moz*).

Для запобігання розвитку резистентності мікроорганізмів засоби рекомендується чергувати кожні 1–3 місяці.

6.2.3. Підготовка води

Забезпечення відповідності води, яка використовується на різних етапах виробничого процесу, є критично важливим аспектом фармацевтичного виробництва. Якість води безпосередньо впливає на властивості та безпеку кінцевого продукту, тому для кожного етапу виробництва вибирається певний тип води залежно від її чистоти та призначення (*Patel & Baldania, 2013*).

Очищена вода використовується переважно для допоміжних операцій, таких як виробництво непарентеральних препаратів, очищення обладнання та компонентів, які контактують із продуктом. Вона повинна відповідати суворим вимогам щодо хімічної чистоти та бути захищеною від мікробіологічного забруднення. Очищену воду отримують із питної шляхом іонного обміну, зворотного осмосу, ультрафільтрації, електродеіонізації чи дистиляції. Цей тип води забезпечує ефективне видалення іонів, органічних речовин та мікроорганізмів, що робить її безпечною для використання в різних технологічних процесах, включаючи миття первинної упаковки та обладнання (*https://www.allfordrugs.com/water-in-pharma/*).

Дистильована вода є необхідною для більш специфічних операцій, таких як промивання клітин дріжджів. Її використання обґрунтоване тим, що високий рівень очищення виключає можливість впливу сторонніх домішок на кінцевий продукт.

Під час дистиляції вода нагрівається до кипіння, перетворюється на пару, а потім конденсується у спеціальних системах. Цей процес забезпечує видалення більшості іонних та органічних домішок, а також мікроорганізмів і продуктів їхньої життєдіяльності.

У виробництві дистильованої води найчастіше використовують два методи: дистиляцію з багаторазовим ефектом та дистиляцію з паровим стисненням. Перший метод забезпечує додаткову мікробіологічну безпеку завдяки високій температурі, яка самодезінфікує обладнання, а другий є більш енергоефективним, адже використовує рекуперацію тепла і має меншу ймовірність утворення корозії.

Однак навіть при дистиляції можливе утворення аерозолів, які можуть переносити залишкові домішки. Для уникнення таких ризиків застосовуються аерозольні сепаратори, що забезпечують додатковий захист і підвищують якість кінцевого продукту (*Rögener, 2024*).

6.2.4. Системи вентиляції та очищення повітря

Системи вентиляції та очищення повітря у фармацевтичних приміщеннях класів C і D розроблені з урахуванням суворих вимог до якості повітря, регламентованих міжнародними стандартами GMP та ISO. Основною метою є контроль за вмістом частинок у повітрі, забезпечення потрібної чистоти, уникнення контамінації та підтримка параметрів мікроклімату.

У фармацевтичних приміщеннях використовують багатоступеневу систему очищення повітря, щоб видалити як великі, так і дрібні частинки пилу, що можуть потрапляти ззовні або утворюватися всередині через роботу обладнання чи діяльність персоналу.

Перший етап очищення проводиться за допомогою грубих фільтрів, які встановлюють на вході до вентиляційної системи. Вони видаляють близько 80% великих частинок розміром 20 мкм і більше, зменшуючи навантаження на наступні фільтри.

Далі повітря проходить через попередні фільтри, які очищають його від дрібніших частинок розміром 1–5 мкм. Ці фільтри встановлюють після вентиляторів, і вони забезпечують ефективність до 95%, що підвищує якість повітря перед наступним етапом.

Останнім етапом є використання HEPA-фільтрів високої ефективності. Вони видаляють до 99,97% частинок розміром 0,3 мкм. Для приміщень класу C ці фільтри знижують вміст частинок у повітрі до 350 000 на м³, а для класу D – до 3,5 мільйона на м³. HEPA-фільтри зазвичай розміщують на виході вентиляційної системи або в спеціальних модулях на стелі.

У фармацевтичних приміщеннях класів чистоти C і D фільтри HEPA займають важливе місце в системі очищення повітря. Вони використовують

субмікронне скловолокно, яке розміщується в алюмінієвій рамі, і можуть бути двох типів конструкції: коробчастого та фланцевого.

Коробчасті фільтри ідеально підходять для встановлення всередині вирізів у плитах перекриття, що дозволяє знімати їх зверху. Якщо ж фільтри потрібно встановити на підвісній стелі, використовують фланцеві фільтри, для яких додатково потрібен спеціальний корпус. Цей корпус забезпечує зручність монтажу фільтрів і рівномірно розподіляє навантаження на елементи підвісної стелі.

Під кінцевими фільтрами HEPA часто встановлюються щілинні захисні решітки з алюмінію або нержавіючої сталі. Такі решітки разом із корпусом фарбуються епоксидною або пічною емаллю, щоб забезпечити стійкість до забруднень та легкість очищення. Для ефективного ущільнення фільтрів у рамах використовують гелеподібний ущільнювач, у який вставляється фільтр. Цей герметик не сприяє розвитку мікроорганізмів і легко піддається очищенню, що відповідає суворим санітарним вимогам.

Фільтри HEPA доступні у товщині 6 та 12 дюймів і мають початковий перепад тиску 1 дюйм водного стовпа. Їх рекомендується замінювати, коли перепад тиску перевищує 2 дюйми водного стовпа, щоб забезпечити належну ефективність фільтрації. Найчастіше такі фільтри встановлюються в стелях приміщень, використовуючи стандартні ламінарні модулі.

У випадках, коли потрібна ще суворіша чистота, використовуються ультрафільтри. Вони забезпечують видалення понад 99,9997% частинок розміром 0,12 мкм і застосовуються для приміщень із найвищими вимогами до якості повітря.

Особливістю приміщень класу С є застосування ламінарних потоків повітря, що забезпечують рівномірний рух очищеного повітря через приміщення, зазвичай у вертикальному напрямку. У таких приміщеннях також встановлюють диференціальні манометри для контролю перепаду тиску між зонами.

Приміщення класу D, хоча й мають менш суворі вимоги, забезпечуються базовою вентиляцією з багатоступеневою фільтрацією, що значно знижує рівень контамінації. Це дозволяє зберігати прийнятний рівень чистоти для менш критичних процесів (*Bhatia, 2012*).

6.3. Матеріальний розрахунок на серію виробництва лікарського засобу

Таблиця 6.1

Матеріальний баланс на серію лікарського засобу

Завантажено за цикл			**Одержано за цикл**		
1. Стадія формування наважок					
№	Компонент	кг	№	Компонент	кг
1	Висушена біомаса	21,49	1	Наважка висушеної біомаси	21,479
2	Аскорбінова кислота	4,298		Наважка аскорбінової кислоти	4,296
3	Втрати, %	0,05	2	Втрати	0,013
Разом		25,788	**Разом**		25,775
2. Стадія об'єднання компонентів					
1	Наважка висушеної біомаси	21,479	1	Об'єднані компоненти	25,775
2	Наважка аскорбінової кислоти	4,296			
Разом		25,775	**Разом**		25,775
3. Стадія капсулювання					
1	Об'єднані компоненти	25,775	1	Капсули, шт	85 830
2	Капсули, 1 капсула 300 мг	85 917		Втрати, кг	0,026
3	Втрати, %	0,1	2	Втрати, капсул	87
Разом		25,775	**Разом**		25,775
4. Стадія фасування					
1	Наповнені капсули, шт	85 830	1	Кількість банок, шт	2 858
2	Банка, капсул	30			
3	Втрати, %	0,1	2	Втрати, банок	3
Разом		2 861	**Разом**		2 861

6.4. Специфікація обладнання

Таблиця 6.2

Специфікація обладнання

Позиція	**Найменування**	**Кількість**	**Технічна характеристика**
Зм-17	Змішувач V-подібний	1	V-подібний змішувач V-35, об'ємом 35 л, з завантаженням 35 кг, потужність привода – 0,55 кВт[1]

Закінчення таблиці 6.2

ПЄ-18	Пересувна ємність	1	Фармацевтичний бін AGIERRE з нержавіючої сталі AISI 316L. Об'єм – 50 л. Виробник: «AGIERRE», Італія[2]
АМН-19	Автоматична машина для наповнення капсул	1	Автоматична машина для наповнення капсул NJP 200C, продуктивність 200 капсул/хв[3]
МПК-20	Машина з підрахунку капсул	1	Автоматична машина для підрахунку капсул, продуктивність наповнення банок – 10-20 пляшок/хв, розміри банок 10-500 мл, діапазон підрахунку капсул 2-9999 шт[4]
АММ-21	Автоматична маркувальна машина	1	Етикетувальна машина Flex L101, для циліндричної тари, продуктивність по нанесеній плівці 500 мм/с, габаритні розміри 2000*670*1650 мм[5]

Примітка:

1. *https://khimmix.ua/ua/smesiteli-dlya-sypuchih/smesitel-v-obraznyj-35l*
2. *https://www.agierre.eu/public/index.php?node=43&subpg=catalogo-prodotti-view&idntree=3&idpro*
3. *http://ua.carmapharm.com/pharma-machines/capsule-filling-machine/njp-200-automatic-capsule-filling-machine.html*
4. *http://m.ua.carmapharm.com/pharma-machines/capsule-counting-machine/automatic-capsule-counting-machine.html*
5. *https://flexmash.com/equipment/labeling/flex-l101/*

6.5. Опис технологічної схеми отримання одержання лікарського засобу

ТП 1. Формування лікарського засобу

ТП 1.1. Отримання суміші для капсулювання

З пересувної ємності (ПЄ-16) висушену біомасу переміщують в V-подібний змішувач об'ємом 35 л (Зм-17), а також поміщають наважку аскорбінової кислоти масою 4,298 кг, сформовану на технічних вагах. Після розміщення компонентів вмикають перемішуючий пристрій (10 об/хв), та перемішують до рівномірного розподілу компонентів. По завершенню перемішування готову суміш лікарського засобу поміщають в пересувної ємності (ПЄ-18) та маркують датою змішуванням.

ТП 1.2. Капсулювання

Вміст пересувної ємності (ПЄ-18) переміщається в автоматичною машиною для наповнення капсул (АМН-19) в яку порошок поступово надходить в процесі капсулювання, також в даний апарат постійно подають попередньо закуплені капсули з гідроксипропілцелюлози. Наповненні капсули автоматично направляються на наступну стадію.

ПМВ 2. Фасування і маркування

ПМВ 2.1. Фасування у первинну упаковку

Заповненні капсули (*від ТП 1.2*) транспортуються конвеєром до машини для підрахунку капсул (МРС-20). Ця машина відраховує заздалегідь визначену кількість капсул (30 штук) і розподіляє їх у первинну упаковку (банку). Потім банка продовжує рух по конвеєру, де вона закривається кришкою.

ПМВ 2.2. Фасування у вторинну упаковку

Наповнені банки з капсулами транспортуються конвеєром до автоматичної етикетувальної машини (АММ-21) для нанесення етикетки. Після етикетування банки продовжують рух по стрічці і пакуються в картонні коробки. Коли коробка повністю завантажена банками, її запечатують і наносять етикетку з назвою продукту, номером партії та часом виробництва. Запечатані ящики відправляються на склад для карантинного зберігання.

РОЗДІЛ 7. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА

7.1. Сучасні методи контролю одержання біомаси залізозбагачених дріжджів

Мікробіологічний контроль

У процесі культивування знову вийшов відбір проб із культуральної рідини з метою контролю чистоти мікробіологічних показників та визначення концентрації біомаси, що є основним продуктом.

Мікробіологічний контроль чистоти здійснюється двома основними методами:

1. висівання на тверді поживні середовища;
2. дослідження за допомогою мікроскопа.

Висівання на тверді поживні середовища.

Посів культуральної рідини та проб біомаси створюється методом штриха, щоб отримати окремі колонії на поживному середовищі в чашках Петрі. Після посіву чашки інкубують, а потім аналізують вирощені колонії за допомогою світлового мікроскопа (*Dean & Hall, 2005*).

Для виготовлення препарату типу «роздавлена крапля» на чисте предметне скло наносять невелику краплю водопровідної води за допомогою піпетки. Під час утримання стерильних умов бактеріологічною петлею вносять невелику кількість мікроорганізмів із колоній, вирощених на чашках Петрі, розмішують і накривають покривним скельцем. Важливо використовувати мінімальну кількість культур, не допускаючи утворення бульбашок повітря під склом. У разі надлишку води її видаляють за допомогою фільтрувального паперу. Мікроскопічний аналіз забезпечується в сухій системі (*Пирог & Ключка, 2021*).

Мікроскопіювання. Під час мікроскопічного аналізу, за умови відсутності контамінації у зразку, можна виявити клітини дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*. Дріжджі мають округлу, яйцевидну, елліпсоідну форму.

Розмір клітини коливається від 2,5 до 10 мкм в ширину та від 4,5 до 21 мкм в довжину. На солодовому сусло-агарі утворюють колонії блідо-жовтого кольору із сірим відтінком, матові, з рівними краями; округлої форми; діаметром 5-7 мкм (*Zakhartsev, & Reuss, 2018*).

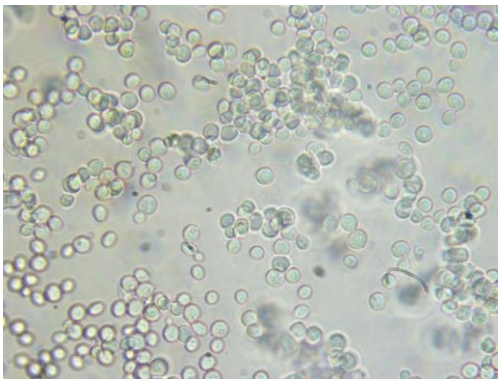

Рис.7.1. Клітини *Saccharomyces cerevisiae* під мікроскопом

Визначення біомаси та життєздатних клітин

Для визначення клітинної біомаси та життєздатності клітин спочатку визначають оптичну щільність клітинної суспензії при довжині хвилі 600 нм, використовуючи чисте культуральне середовище як контроль. Вимірювання проводять у 2-міліметрових вимірювальних кюветах. На основі отриманих значень оптичної щільності розраховують суху масу клітин, використовуючи рівняння для стандартної кривої.

Для визначення життєздатності клітин використовують метод фарбування метиленовим синім. Зразки клітинної суспензії забарвлюють 0,01% розчином метиленового синього і підраховують мертві клітини в камері Горяєва. Життєздатні клітини залишалися незабарвленими, тоді як мертві набувають синього забарвлення.

Обидва визначення виконують в трьох повторах для забезпечення точності та надійності результатів (*Nowosad, & Sujka, 2021*).

Кількісне визначення внутрішньоклітинного заліза

Для визначення внутрішньоклітинного заліза використовують полум'яну атомно-абсорбційну спектрофотометрію (*Pas, & Raspor, 2007*).

Принцип атомно-абсорбційної спектрофотометрії полум'я полягає в тому, що зразок, який містить аналіт, спочатку вводиться в полум'я, де він

проходить через процес десольватації та атомізації. У процесі десольватації розчинник випаровується, залишаючи тверді частинки аналіту. Після цього ці частинки нагріваються до високих температур, що спричиняє їх атомізацію, тобто перетворення на вільні атоми.

Атоми аналіту, які утворюються в полум'ї, поглинають світло певної довжини хвилі, що є специфічною для кожного елемента. Кількість світла, поглинутого атомами, пропорційна концентрації цих атомів у полум'ї. Спектрофотометр вимірює інтенсивність поглинання світла, що дозволяє визначити концентрацію елементу в зразку (*Izario Filho, та ін., 2012*).

Зразки висушеної біомаси дріжджів зважують у наперстках, заливають 3 мл суміші HNO_3 –$HClO_4$ (5:1) і мінералізують протягом 20 хвилин при 250 °C у муфельній печі. Після охолодження розчини переносять в мірні колби на 10 мл і доповнюють дистильованою водою (*Nowosad, & Sujka, 2021*).

Кількість внутрішньоклітинного заліза визначають за допомогою спектрометра серії Agilent 240 AA (*Aydinoglu, 2022*). Значення довжини хвилі та ширини щілини становили 248,3 нм та 0,2 нм відповідно, а інтенсивність лампи – 5 мА. Для атомізації використовують повітряно-ацетиленове полум'я (*Balaban та ін., 2019*).

Вимірювання проводять в трьох повторах для кожного зразка, щоб забезпечити точність та повторюваність результатів. Обчислюють середнє значення поглинання для кожного зразка. Далі концентрація внутрішньоклітинного заліза визначається за допомогою калібрувального графіка, побудованого на основі вимірювань стандартних розчинів з відомими концентраціями заліза. Результати порівнюються з контрольними значеннями для інтерпретації даних (*Nowosad, & Sujka, 2021*).

Визначення вмісту білка в клітинах

Вміст білка в клітинах дріжджів визначають за допомогою метода К'єльдаля (*Kieliszek, & Kot, 2019*).

Метод К'єльдаля полягає в перетворенні всього азоту у зваженому зразку біомаси на сульфат амонію шляхом розщеплення сірчаною кислотою,

підлужнення розчину та визначення отриманого аміаку шляхом його перегонки в виміряний об'єм стандартної кислоти, надлишок якої визначається титруванням. Метод включає мінералізацію проби, дистиляцію та титрування аміаку, що виділяється.

1. *Мінералізація* – гомогенізований зразок мінералізується в середовищі концентрованої сірчаної кислоти в присутності каталізатора. Результатом мінералізації є розчин, що містить сульфат амонію:

$$\text{Зразок} + H_2SO_4 \rightarrow (NH_4)_2SO_4 + CO_2 + SO_2 + H_2O$$

2. *Дистиляція.* У присутності надлишку лугу NH_4^+ перетворюється на NH_3, який можна відокремити від зразка перегонкою з парою:

$$(NH_4)_2SO_4 + 2NaOH \rightarrow Na_2SO_4 + 2H_2O + 2NH_3$$

$$H_3BO_3 + NH_3 = (NH_4 + H_2BO_3) + H_3BO_3$$

3. *Титрування.* Аміак, кількісно перегнаний з парою, збирається в поглинаючому розчині. Вміст азоту в зразку визначається кількістю поглинутого аміаку. Титрування проводять із використанням кольорових індикаторів або потенціометричним методом. Існує два методи титрування: пряме (використовують борну кислоту) і зворотне (використовують сірчану і соляну кислоту):

$$2(NH_4H_2BO_3) + H_2SO_4 = (NH_4)_2SO_4 + 2H_3BO_3$$

Результати є середніми для трьох вимірювань (*Saez-Plaza, & Asuero, 2013*).

7.2. Методи контролю біологічно активної добавки

Кінцевим продуктом є біологічно активна добавка на основі дріжджів, збагачених залізом. За основу для написання аналітично нормативної документації було обрано схожий за складом та властивостями препарат (*https://tabletki.ua/uk/*).

Склад препарату:

- Дріжджі (*Saccharomyces cerevisiae*) – 250 мг.
- Залізо (у формі, легкій для засвоєння) – 12 мг.
- Аскорбінова кислота – 50 мг.

Форма випуску

Тверді капсули з гідроксипропілметилцелюлози. Препарат фасується у пластикові банки по 30 капсул.

Властивості

Залізо є ключовим мікроелементом, який входить до складу понад ста ферментів людського організму, виконуючи критично важливі функції у процесах дихання, кровотворення, імунного захисту та окисно-відновних реакціях. Цей елемент є незамінним для забезпечення клітинного живлення, оскільки входить до складу гемоглобіну, що транспортує кисень і поживні речовини до тканин і органів.

Залізо необхідне для діяльності численних ферментів і білків, які відповідають за регуляцію обміну холестерину, утворення кров'яних клітин, синтез ДНК, імунну відповідь на бактеріальні чи вірусні інфекції, а також за проведення окисно-відновних реакцій і підтримку енергетичного метаболізму.

Рекомендації щодо застосування

Для зміцнення імунної системи, нормалізації обмінних процесів, підвищення стійкості організму до захворювань і зменшення втомлюваності за умов підвищених фізичних та психоемоційних навантажень, а також для профілактики залізодефіцитної анемії. Залізо відіграє важливу роль у виробленні червоних і білих кров'яних клітин, сприяє постачанню клітин киснем і підтримує функціонування імунної системи.

Спосіб застосування

Приймати по 1 капсулі 1 раз на день під час або після їжі, запиваючи достатньою кількістю води. Курс прийому – 30 днів.

Протипоказання

Індивідуальна чутливість до окремих компонентів.

Термін придатності

24 місяці.

Показники якості препарату та методи їх контролю представлені в таблиці 7.1 відповідно до вимог Державної Фармакопеї України (ДФУ).

Таблиця 7.1

Показники якості біологічно активної добавки

Назва показника	Характеристика та норма	Метод контролю
Опис	Тверді рослинні капсули циліндричної форми з напівсферичними кінцями жовтуватого кольору. Вміст капсули – порошок білого або майже білого кольору зі специфічним запахом і смаком, який легко розчиняється у воді.	ДФУ 1.2, ст. «Капсули»
Автентичність	Дріжджі мають округлу, яйцевидну, елліпсоідну форму. Розмір клітини коливається від 2,5 до 10 мкм в ширину та від 4,5 до 21 мкм в довжину. На солодовому сусло-агарі утворюють колонії блідо-жовтого кольору із сірим відтінком, матові, з рівними краями; округлої форми; діаметром 5-7 мкм.	За п.2
Однорідність маси	Із 20 випробовуваних капсул допускається не більше 2 капсул, що мають відхилення від середньої маси більше ±7,5%, не повинно бути жодної капсули, що має відхилення від середньої маси більше ±15%	Згідно ДФУ, п. 2.9.5.
Кількісне визначення заліза	Кількість заліза має становити 12 мг в одній капсулі	Згідно ДФУ, п. 2.2.23
Кількісне визначення аскорбінової кислоти	Кількість аскорбінової кислоти має становити 50 мг в одній капсулі	Згідно ДФУ, 1-е вид., монографії
Розпадання	Не більше 30 хв	Згідно ДФУ, 2.9.1
Мікробіологічна чистота	Препарат не повинен містити сторонніх мікроорганізмів, цвілі і дріжджоподібних грибів	Згідно ДФУ 1.4, п. 2.6.12., п. 2.6.13., п. 5.1.4.
Специфічна нешкідливість	Препарат має бути нешкідливим.	За п.8

1. Опис.

Тверді рослинні капсули циліндричної форми з напівсферичними кінцями жовтуватого кольору. Вміст капсули – порошок білого або майже білого кольору

зі специфічним запахом і смаком. Визначають візуально. За зовнішнім виглядом повинні відповідати вимогам ДФУ 1.2, ст. «Капсули».

2. Автентичність.

Дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* мають округлу, яйцевидну, елліпсоідну форму. Розмір клітини коливається від 2,5 до 10 мкм в ширину та від 4,5 до 21 мкм в довжину. На солодовому сусло-агарі утворюють колонії блідо-жовтого кольору із сірим відтінком, матові, з рівними краями; округлої форми; діаметром 5-7 мкм.

3. Однорідність маси.

Зважують нерозпаковану капсулу. Потім розпаковують капсулу в такий спосіб, щоб не була втрачена будь-яка частина оболонки, і видаляють якомога повніше її вміст. Якщо капсули з м'якою оболонкою, промивають оболонку підхожим розчинником і залишають на повітрі до видалення запаху розчинника. Потім зважують оболонку. За різницею зважувань розраховують масу вмісту капсули. Повторюють процедуру з іншими 19 капсулами. Припустиме відхилення від середньої маси в межах ±7,5%.

4. Кількісне визначення заліза.

Вміст заліза в біологічно активній добавці має становити не менше 12 мг на 0,3 г продукту. Визначення проводять методом атомно-абсорбційної спектрометрії згідно з пунктом 2.2.23 ДФУ.

Підготовка проб до аналізу.

Підготовку проби до випробовування можна проводити на вибір двома способами: мінералізацією або гідролізом з окисником.

Мінералізація проби.

Тигель прожарюють у муфельній печі за температури (525±25) °С протягом 1 год, охолоджують в ексикаторі і зважують з похибкою не більше 0,001 г.

В тигель поміщають наважку досліджуваної проби масою 2,0 г з похибкою не більше 0,001 г. Після чого тигель з пробою поміщають в холодну муфельну піч і поступово підвищують температуру до 200-250 °С (до появи диму).

Після припинення виділення диму температуру муфельної печі доводять до (525±25) °С і ведуть мінералізацію протягом 5 год. Відсутність незгорілих частин зразку і рівномірний сірий колір золи вказує на повну мінералізацію матеріалу.

При наявності неспалених часток тигель з золою охолоджують, додають кілька капель дистильованої води або 1-2 $см^3$ розчину перекису водню, розбавленого дистильованою водою у співвідношенні 1:9. Тигель з золою підсушують на електроплитці або іншим способом і знову поміщають в муфельну піч, продовжують озолення за температури (525±25) °С протягом 1 год.

Тигель із золою охолоджують у виключеній муфельній печі, після чого золу змочують кількома краплями дистильованої води, додають 2-3 $см^3$ розчину соляної кислоти, розведеної дистильованою водою у співвідношенні 1:1, перемішують скляною паличкою, після чого приливають 5-10 $см^3$ дистильованої води, знову перемішують і переносять, не фільтруючи, через лійку в мірну колбу місткістю 100 $см^3$. Тигель і лійку обполіскують, розчин доводять дистильованою водою до мітки, старанно перемішують і дають відстоятись.

Гідроліз проби

При гідролізі зразку виключаються втрати мікроелементів, оскільки готування проби проходить в герметичних гідролізних гільзах. Для гідролізу застосовують, як окисник, 6 н. соляну кислоту. В гідролізну гільзу поміщають наважку проби масою 2 г. До неї додають 20 $см^3$ 6н. соляної кислоти. Після чого гільзи з пробою закривають і поміщають в холодну сушильну шафу, поступово підвищуючи температуру до 105°С. Гідроліз триває при такій температурі дванадцять годин, по завершенню цього часу, шафу виключають і залишають гільзи з пробами на шістнадцять годин для завершення гідролізних процесів.

Гідролізат в гідролізній гільзі перемішують скляною паличкою і фільтрують через паперовий фільтр у мірну колбу місткістю 100 $см^3$. Гільзу і осад на фільтрі обполіскують 3-4 рази здистильованою водою і доводять розчин

до мітки, старанно перемішують. Пробу для визначення мікроелементу готують у двох паралелях.

Приготування розчинів для проведення випробувань.

Приготування 6 Н розчину соляної кислоти (фоновий розчин)

В мірну колбу наполовину заповнену з дистильованою водою місткістю 1 дм^3 додають 186 см^3 концентрованої соляної кислоти, доводять об'єм розчину до мітки бідистильованою водою, перемішують.

Приготування основного стандартного розчину заліза з масовою концентрацією 50 мг/дм^3.

Відкривають ампулу стандартного зразка з концентрацією іонів заліза 1,0 мг/см^3, виливають в сухий стакан, піпеткою відбирають 5 см^3, переносять в мірну колбу місткістю 100 см^3, доводять до мітки фоновим розчином, перемішують. Розчин може зберігатися 3 місяці.

Приготування калібрувальних розчинів заліза

У мірні колби місткістю 100 см^3 піпеткою переносять відповідно до таблиці 5 об'єми розчину 7.10, доводять до мітки фоновим розчином і перемішують.

Таблиця 7.2

Приготування калібрувальних розчинів заліза

Характеристика розчину	**Номер розчину порівняння**					
	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**
Об'єм розчину А, см^3	1,0	2,0	4,0	6,0	10	20,0
Масова концентрація заліза в розчині порівняння, мг/дм^3	0,5	1,0	2,0	3,0	5,0	10,0

Калібрувальні розчини готують у день проведення випробування.

Порядок проведення досліджень.

Побудова калібрувального графіка.

Готують атомно-абсорбційний спектрофотометр для дослідження у відповідності з інструкцією до нього. Визначення масової концентрації

мікроелемента в досліджуваному розчині проводять згідно аналітичних ліній, нм: залізо – 248,3.

Для атомізації використовують полум’я ацетилен-повітря.

При стабільному режимі роботи у полум’я вводять фоновий розчин, котрий не містить мікроелементу, який буде визначатися, і встановлюють початок відліку. Після чого вводять у полум’я стандартний розчин мікроелементу максимальної концентрації і встановлюють діапазон шкали. Знову вводять фоновий розчин, а потім калібрувальні розчини в порядку підвищення в них концентрації мікроелементу для побудови калібрувальної кривої.

Холосте випробування.

Готують розчин тим же способом що і розчин, який аналізується, проводячи всі операції, використовуючи ті ж реактиви, але без наважки зразка.

Спектрометричні вимірювання.

Вимірюють абсорбцію розчину, який аналізують і розчину „холостої” проби. Коректують абсорбцію аналізованого розчину, якщо абсорбція „холостої” проби відрізняється від абсорбції нульового калібрувального розчину.

Якщо показники приладу під час дослідження аналізованого розчину проби, перевищують показники приладу для контрольного стандартного розчину максимальної концентрації, то аналізований розчин розводять фоновим розчином. отриманий розчин замірюють повторно.

Під час аналізу кожної проби проводять два паралельних визначення.

Якщо показники приладу під час аналізу розчину досліджуваного зразка перевищують показники приладу для калібрувального розчину максимальної концентрації, то гідролізат розводять фоновим розчином і повторюють визначення.

Тричі аналізують випробовуваний розчин, оброблений згідно з методикою, та розраховують його концентрацію (Х, мкг), в перерахунку на середній вміст однієї капсули.

5. Кількісне визначення аскорбінової кислоти.

Вміст аскорбінової кислоти в біологічно активній добавці має становити не менше 50 мг на 0,3 г продукту. Кількісне визначення проводять методом йодометричного титрування згідно з ДФУ.

0,150 г досліджуваної субстанції зважують за допомогою аналітичних ваг. Після цього зразок розчиняють у суміші, яка складається з 10 мл розведеної сірчаної кислоти (приготованої відповідно до вимог фармакопеї) і 80 мл води, вільної від вуглецю діоксиду. Отриманий розчин ретельно перемішують для забезпечення повного розчинення аскорбінової кислоти.

До отриманого розчину додають 1 мл розчину крохмалю, який слугує індикатором у процесі титрування. Розчин титрують 0,05 М розчином йоду до появи стійкого синьо-фіолетового забарвлення, яке вказує на завершення реакції між аскорбіновою кислотою і йодом.

Для розрахунку вмісту аскорбінової кислоти використовується стандартне співвідношення: 1 мл 0,05 М розчину йоду відповідає 8,81 мг аскорбінової кислоти ($C_6H_8O_6$). На підставі витраченого об’єму йоду визначають кількість аскорбінової кислоти в досліджуваному зразку.

6. Розпадання.

Капсули тверді мають витримувати випробування на розпадання таблеток або капсул. Як рідке середовище використовують воду Р. Якщо це обґрунтовано та дозволено, як рідке середовище може бути використаний 0.1 М розчин хлористоводневої кислоти або шлунковий сік штучний Р. Якщо капсула спливає на поверхню води, може бути використаний диск. Прилад вмикають на 30 хв, якщо не обґрунтовано в окремій статті , і досліджують стан капсул.

У кожну з шести трубок помішають одну таблетку і, якщо зазначено, поміщають диск; опускають кошик у посудину з рідиною, зазначеною в загальних та окремих статтях. Вмикають прилад, по закінченні зазначеного часу кошик виймають і досліджують стан капсул.

Препарат витримав випробування, якщо всі капсули розпалися. Вважають, що зразки розпалися, якщо на сітці:

1) немає залишку;

2) є залишок, який складається з м’якої маси, що не має відчутно твердого ядра, котре не змочується;

3) є лише фрагменти покриття (капсули) або лише фрагменти оболонки на сітці, або, якщо були використані диски, фрагменти оболонки, які прилипли до нижньої поверхні диска.

Якщо капсули не витримали випробування внаслідок прилипання їх до дисків випробування повторюють на наступних шести таблетках без дисків.

7. Мікробіологічна чистота.

Препарат не повинен містити сторонніх мікроорганізмів, цвілі і дріжджоподібних грибів. Випробування проводять відповідно до вимог ДФУ 1.4, п. 2.6.12. Випробування мікробіологічної чистоти нестерильних лікарських засобів (визначення загального числа життєздатних аеробних мікроорганізмів), п. 2.6.13. Випробування мікробіологічної чистоти нестерильних лікарських засобів (випробування на окремі види мікроорганізмів), п. 5.1.4. Мікробіологічна чистота лікарських засобів.

Зразок біологічно активної добавки в кількості 10 г поміщають в мірний флакон ємністю 250 мл, доводять до 100 мл (розведення 1:10) буферним розчином з натрію хлоридом і пептоном, pH 7,0 і перемішують до утворення гомогенної суспензії.

Для визначення загальної кількості бактерій по 1 мл суспензії висівають не менше, ніж на дві чашки Петрі з густим живильним середовищем № 1(МПА) методом двошарового посіву. Для визначення загальної кількості грибів по 1 мл суспензії висівають не менше, ніж на дві чашки Петрі з густим живильним середовищем № 2 (Сабуро) методом двошарового посіву. Посіви на середовищі № 1 інкубують при 30-35 °С для виявлення бактерій, а посіви на середовищі № 2 – при 20-25 °С для виявлення грибів протягом 5 діб, якщо достовірні результати не будуть отримані раніше.

Для визначення окремих видів мікроорганізмів по 10 мл суспензії висівають в 100 мл рідких поживних середовищ: № 3 (середовище збагачення для бактерій род. *Enterobacteriaceae* для виявлення бактерій роду

Enterobacteriaceae) і № 8 (для виявлення *Pseudomonas aeruginosa* і *Staphylococcus aureus*). Посіви інкубують при 30 - 35 °С протягом 18-24 годин, після чого роблять пересів з середовища № 3 на густі середовища № 4 (агар Ендо) і № 5 (вісмутсульфіт агар), а з середовища № 8 – на густі середовища № 9 (для виявлення пігменту піоціаніну) і № 10 (для ідентифікації *Staphylococcus aureus*). Посіви інкубують при 35 -37 °С протягом 24-48 годин.

При наявності росту мікроорганізмів проводять їх ідентифікацію відповідно до вимог ДФУ 1.4, п. 2.6.13. Препарат не повинен містити сторонніх мікроорганізмів, цвілі і дріжджоподібних грибів. У разі виявлення в посівах сторонніх мікроорганізмів, контроль повторюють на подвійній кількості зразків препарату. При відсутності росту мікроорганізмів при повторному посіві випробуваний препарат вважають відповідним вимогам. У разі зростання сторонніх мікроорганізмів при повторному посіві зразків серію препарату бракують.

8. Специфічна нешкідливість.

Дієтична добавка повинна бути нешкідливою для білих мишей при введенні її перорально в кількості однієї дози.

Випробування проводять на 5-ти безпородних мишах обох статей масою 14-16 г (зважування проводять безпосередньо перед дослідом). Вміст капсули розводять водою з розрахунку 0,5 мл на 1 дозу препарату. Кожній з 5-ти мишей вводять по 0,5 мл отриманої суспензії перорально в шлунок за допомогою насадки на шприц ємністю 1 мл. Термін спостереження – 5 діб.

Всі тварини повинні залишатися живими і не втратити у вазі. У разі загибелі за цей термін хоча б однієї миші або втрати у вазі контроль повторюють на подвійній кількості тварин. Препарат вважають нешкідливим, якщо при повторному випробуванні не загинула жодна з мишей. В іншому випадку дану серію бракують.

РОЗДІЛ 8. СКЛАДАННЯ ПАТЕНТНОЇ ЗАЯВКИ СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ЗАЛІЗОВМІСНОЇ БІОЛОГІЧНО АКТИВНОЇ ДОБАВКИ

8.1. Галузь і застосування корисної моделі

Винахід належить до галузі фармацевтичної біотехнології, зокрема до розробки біологічно активних добавок, спрямованих на покращення здоров'я населення. Запропонована корисна модель стосується створення біологічно активної добавки на основі хлібопекарських дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*, збагачених залізом.

Дана добавка призначена для профілактики та запобігання розвитку залізодефіцитної анемії, яка є поширеним станом, особливо серед жінок, дітей та людей похилого віку. Вона може використовуватися в медичній практиці та дієтології як ефективний засіб для підтримання належного рівня заліза в організмі.

Корисна модель може бути впроваджена в рамках системи заходів для профілактики залізодефіцитної анемії, включаючи програми з громадського здоров'я, а також індивідуальні рекомендації від лікарів та дієтологів. Завдяки високій біодоступності заліза, добавка забезпечує оптимальне засвоєння цього важливого мікроелемента, що сприяє загальному покращенню стану здоров'я та якості життя населення.

8.2. Відомі аналоги та їх основні недоліки

Серед пероральних препаратів заліза, що використовуються в клінічній практиці для профілактики залізодефіцитної анемії, переважають традиційні препарати заліза, такі як сульфат заліза ($FeSO_4$), сукцинат заліза, фумарат заліза, глюконат заліза та гліцин заліза. Хоча ці препарати широко застосовуються, вони мають ряд суттєвих недоліків.

Традиційні препарати заліза, особливо $FeSO_4$, мають характерний металевий запах, який може бути неприємним для пацієнтів. Нестабільність хімічних препаратів заліза під впливом вологи та кисню також є серйозною проблемою, що призводить до їх деградації та зниження ефективності та вимагає дотримання специфічних умов зберігання і може знижувати тривалість їх придатності.

Традиційні форми заліза мають обмежену біодоступність, що означає, що лише невелика частина прийнятого заліза всмоктується в кровотік і використовується організмом. Це вимагає прийому високих доз, що підвищує ризик побічних ефектів. Вільне залізо в хімічних препаратах може взаємодіяти з деякими компонентами їжі, такими як фітини, кальцій та інші мінерали, знижуючи його абсорбцію. Це вимагає дотримання специфічних дієтичних рекомендацій під час прийому препаратів, що може бути незручним для пацієнтів і знижувати їхнє бажання дотримуватися призначеної терапії.

Вільне залізо в організмі може бути токсичним, оскільки воно здатне генерувати вільні радикали, які пошкоджують клітини та тканини. Це особливо актуально при передозуванні препаратів заліза, що може призводити до серйозних ускладнень. Багато пацієнтів, які приймають традиційні препарати заліза, скаржаться на шлунково-кишкові симптоми, такі як нудота, блювання, запори або діарея. Ці побічні ефекти знижують прихильність до лікування та можуть вимагати зниження дози або повної відмови від терапії. Крім зазначених вище, традиційні препарати заліза можуть спричиняти інші неприємні симптоми, такі як металевий присмак у роті, зубний наліт або зміна кольору стільця (*Chen та ін., 2024*).

В останні роки мікроорганізми, особливо дріжджі, використовувалися як носії мікроелементів для отримання органічних мікроелементів, які легше перетравлюються та засвоюються з підвищеною біологічною активністю. Вони також недорогі у виробництві. На додаток до низької вартості, збагачені мікроелементами дріжджі можуть ефективно замінити інші неорганічні та органічні мікроелементні харчові добавки (*Sun, та ін., 2022*).

Дана добавка може стати новим і безпечнішим рішенням для запобігання розвитку анемії. Оскільки таке джерело заліза є менш токсичне і краще засвоюється організмом (*Liberal, & Barros, 2020*).

Генетична селекція, зокрема технологія злиття протопластів дозволяє комбінувати корисні генетичні характеристики різних штамів дріжджів, щоб отримати нові штами з бажаними властивостями.

За оптимальних умов культивування, які включають певний склад поживного середовища (глюкоза – 80 г/л, пептон – 5 г/л, дріжджовий екстракт – 10 г/л, сульфат заліза – 1,6 г/л), температури 30 °С, швидкості обертання 200 об/хв, pH 7 і тривалості процесу 30 год біомаса та вміст заліза в штамі досягали 11 г/л і 25 мг Fe/г сухих клітин відповідно (*Yuan, & Liu, 2004).*

У порівнянні з іншими методами оптимізації параметрів культивування та вибору найкращого джерела заліза, злиття протопластів відзначається значним накопиченням внутрішньоклітинного заліза та біомаси дріжджів.

Однак цей метод не є оптимальним для отримання біологічно активної добавки з високим вмістом заліза через його складність і високі витрати. Крім того, навіть за оптимальних умов, він не забезпечує достатньо високий вміст заліза в клітинах дріжджів та потребує тривалого культивування (*Gaensly, & Bonfim, 2011, Yuan, & Liu, 2004, Gaensly, & Bonfim, 2014*).

8.3. Постановка задачі корисної моделі та її вирішення

Задача корисної моделі полягає у створенні оптимальної технології одержання біологічно активної добавки на основі хлібопекарських дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*, збагачених залізом, яка б забезпечувала ефективну профілактику залізодефіцитної анемії та попередження дефіциту заліза в цілому. Основні вимоги до цієї добавки включають високу біодоступність заліза, відсутність характерного металевого запаху, мінімальні побічні ефекти та стабільність при зберіганні.

Поставлена задача вирішується тим, що для збагачення дріжджів залізом застосовується імпульсне електричне поле (ІЕП). Дослідження науковців показало, що ІЕП збільшує накопичення заліза в клітинах *S. cerevisiae* штаму

11B1. За концентрації іонів заліза 200 мкг/мл кількість накопиченого внутрішньоклітинного заліза зросла з 18,68 мг/г сухої маси (для контрольної культури не обробленої ІЕП) до 48,01 мг Fe/г сухої маси (*Nowosad, & Arczewska, 2021*).

8.4. Опис запропонованого способу

Причинно-наслідковий зв'язок між сукупністю запропонованих ознак та очікуваним технічним результатом полягає в наступному.

Використання хлібопекарських дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* 11B1, збагачених залізом, дозволяє створити біологічно активну добавку, яка забезпечує ефективну профілактику залізодефіцитної анемії та попередження дефіциту заліза.

Дріжджі культивуються у спеціальному поживному середовищі, що складається з пептону (10 г/л), дріжджового екстракту (5 г/л), глюкози (10 г/л) та $Fe(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$ (0,2 г/л). Культивування проводиться протягом 20 годин при температурі 30 °C та швидкості обертання 100 об/хв. Ці умови забезпечують оптимальний вихід біомаси дріжджів та велике накопичення заліза в їх клітинах.

Під час культивування застосовується імпульсне електричне поле (ІЕП) для підвищення накопичення внутрішньоклітинного заліза. Використовуються такі параметри ІЕП: напруга 1500 В, тривалість імпульсу 10 мкс, тривалість обробки 20 хвилин, кількість імпульсів 1200. Дослідження показали, що застосування ІЕП значно підвищує кількість накопиченого заліза в клітинах *S. cerevisiae* 11B1 (*Nowosad, & Arczewska, 2021*).

Після завершення процесу збагачення залізом, дріжджів проходять післяферментаційні процеси. Вони включають відокремлення біомаси шляхом сепарування, очищення клітин дистильованою водою, розведення відмитих клітин дистильованою водою перед сушінням, сушіння біомаси в розпилювальній сушарці, фасування, пакування та маркування.

Відокремлення біомаси сепаруванням дозволяє зібрати дріжджові клітини, які потім промиваються дистильованою водою для видалення залишків середовища та заліза з клітинної стінки клітин. Після цього відмиті клітини

розводяться дистильованою водою для забезпечення рівномірного розподілу клітин та правильної в'язкість суспензії, що сприятиме ефективному процесу сушіння. Сушіння біомаси здійснюється в розпилювальній сушарці, що дозволяє швидко і легко висушувати розчини, перетворюючи їх на ідеально подрібнений сухий продукт завдяки безперервному процесу з високою продуктивністю.

Завершальним етапами виробництва є здійснення операцій фасування, пакування та маркування.

8.5. Формула корисної моделі

Біологічно активна добавка на основі хлібопекарських дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* 11B1, збагачених залізом, що відрізняється використанням імпульсного електричного поля для підвищення накопичення внутрішньоклітинного заліза.

В основу запропонованого способу покладено використання штаму *Saccharomyces cerevisiae* 11B1, що культивується у спеціально підготовленому поживному середовищі. Під час культивування дріжджі піддаються обробці імпульсним електричним полем, що дозволяє значно підвищити накопичення внутрішньоклітинного заліза. Параметри ІЕП визначаються наступним чином: напруга становить 1500 В, тривалість кожного імпульсу складає 10 мкс, тривалість обробки – 20 хвилин, а загальна кількість імпульсів дорівнює 1200.

Застосування ІЕП при таких параметрах сприяє збільшенню вмісту заліза в клітинах *S. cerevisiae* 11B1 до 48,01 мг Fe/г сухої маси, що є значно вищим показником у порівнянні з контролем.

8.6. Реферат

Винахід належить до галузі фармацевтичної біотехнології, зокрема до розробки біологічно активних добавок, спрямованих на покращення здоров'я населення. Запропонована корисна модель стосується створення біологічно активної добавки на основі хлібопекарських дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*, збагачених залізом.

Винахід передбачає використання специфічних методів для збагачення дріжджів залізом, що дозволяє досягти високої біодоступності заліза,

мінімізувати побічні ефекти та забезпечити стабільність добавки при зберіганні. Дослідження показали, що застосування імпульсного електричного поля (ІЕП) значно підвищує накопичення заліза в клітинах *S. cerevisiae* 11В1. За концентрації іонів заліза 200 мкг/мл кількість накопиченого внутрішньоклітинного заліза зросла з 18,68 мг/г сухої маси до 48,01 мг Fe/г сухої маси.

Дана біологічно активна добавка призначена для профілактики залізодефіцитної анемії та може використовуватися в медичній практиці та дієтології як ефективний засіб для підтримання належного рівня заліза в організмі.

ВИСНОВКИ

Кваліфікаційна робота зосереджена на розробці біологічно активної добавки на основі дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*, збагачених залізом, з акцентом на вдосконалення технологічних підходів та обґрунтуванні наукових і практичних рішень. У ході аналізу наукових досліджень було встановлено, що збагачення дріжджів залізом є перспективним напрямком для створення функціональних біологічно активних добавок із високою біодоступністю заліза. Серед інноваційних методів особливу увагу привертає використання імпульсного електричного поля, яке збільшує проникнення клітинних мембран, сприяючи ефективному транспорту заліза в клітинах. Додатково перспективними визнано підходи із застосуванням сидерофорів, що покращують стабільність та доступність заліза для клітинних процесів.

Розробка добавок базувалася на оптимізацію умов культивування дріжджів і вдосконалення технологічних етапів виділення та очищення біомаси. При написанні роботи було обрано та обґрунтовано методи виділення та очищення біомаси дріжджів, що включають допоміжні роботи (зберігання культуральної рідини та підготовка сушильного агента) та і технологічний процес післяферментаційного одержання біомаси *Saccharomyces cerevisiae* (зберігання культуральної рідини, видалення біомаси, очищення клітин, сушіння біомаси) та запропоновано обладнання, за допомогою якого можна зробити це.

Додавання аскорбінової кислоти до складу біологічно активної добавки обґрунтована її здатністю покращувати засвоєння заліза за рахунок хелатуючих властивостей і відновлення заліза до більшої біодоступної форми. Додавання аскорбінової кислоти також сприяє частковому задоволенню необхідної потреби в вітаміні С, що позитивно впливає на антиоксидантний захист і метаболічні процеси.

Під час вибору лікарської форми продукту перевагу віддано капсулам, виготовленим із гідроксипропілметилцелюлози. Ця форма забезпечує точність дозування, зручність застосування, захист активних компонентів та сумісність із із різними дієтами. Як варіант упаковки обрано пластикову банку з поліетилентерефталату для первинного пакування та картонну коробку для вторинного. Такий підхід гарантує герметичність і зручність зберігання, а також захист продукту від зовнішніх впливів.

Виробничі умови для виготовлення добавки відповідають стандартам GMP і включають приміщення класів чистоти C та D, що забезпечує необхідний рівень захисту продукту та ефективність технологічного процесу. Крім того, розроблено комплексні критерії контролю якості, які включають опис, автентичність, однорідність маси, розпадання, кількісне визначення заліза й аскорбінової кислоти, а також мікробіологічну чистоту та специфічну нешкідливість продукту.

На основі отриманих результатів складено патентну заявку на розробку біологічно активної добавки, призначеної для профілактики залізодефіцитної анемії. Ця добавка може використовуватися в медичній практиці та дієтології як ефективний засіб для підтримання належного рівня заліза в організмі.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Горова, А. І., Лисицька, С. М., Павличенко, А. В., & Федотов, В. В. (2012). Біотехнології в екології. Методичні рекомендації до самостійної роботи студентів спеціальності 7 (8). 04010601 Екологія та охорона навколишнього середовища.
2. Гуляєв В.М. Конспект лекцій з дисципліни “ Устаткування виробництва”. Для здобувачів вищої освіти бакалаврського рівня зі спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія». Кам’янське: ДДТУ, 2019. – 58с.
3. Данилов І. П., Самійленко С. І. Апарати мікробіологічної промисловості [Текст] : навч. посібник /– Харків : НТУ «ХПІ», 2008. – 272 с.
4. Державна фармакопея України. Доповнення 1. — Х., 2004.
5. Державна фармакопея України. Доповнення 2. — Х., 2018.
6. Державна Фармакопея України/Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: РІРЕГ, 2001. — 556 с.
7. Державний реєстр дезінфекційних засобів. [Електронний ресурс] / Режим доступу: https://data.gov.ua/dataset/reestr_dezzasobiv_moz
8. Дріжджі пивні Фармаком із залізом таблетки №100 у бан. Електронний ресурс] / Режим доступу: https://tabletki.ua/uk/%D0%94%D1%80
9. Історія компанії. [Електронний ресурс] / Режим доступу: https://darnytsia.ua/history
10. Лихач А. В. Промислова біотехнологія. Методичні рекомендації для виконання лабораторно-практичних занять для здобувачів ступеня вищої освіти «бакалавр» спеціальності 162 «Біотехнологія та біоінженерія» денної форми навчання, Миколаївський національний аграрний університет, 2016. – 116 с.
11. Лобова, О. В., Левішко, А. С., & Гуменюк, І. І. (2021). Біотехнології: Навч. посібник. *К.: Видавництво НУБіП України*, 548, 14.
12. Мацай Н. Ю. Основи біотехнології : підручник для студ. освітнього рівня бакалавр спец. «Біологія» / – Луганськ : Держ. закл. «Луган. нац. ун-т імені

Тараса Шевченка». – Луганськ : Вид-во ДЗ «ЛНУ імені Тараса Шевченка», 2011. – 153 с.

13. Пирог Т.П., Ключка Л.В. Загальна мікробіологія і вірусологія: [Електронний ресурс] лабораторний практикум для здобувачів освітнього ступеня «бакалавр» спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» освітньо-професійної програми «Біотехнології: фармацевтична, промислова, харчова, природоохоронна» денної форми навчання. – К.: НУХТ, 2021. – 100 с.
14. Препарати заліза. [Електронний ресурс] / Режим доступу: https://compendium.com.ua/uk/atc/b03a/page/2/?srsltid=AfmBOoqxqaovzVKbW2beDTLHM2bU7rarjkV89yW1riDPSEdkCMyTovtY
15. Скільки військових в українській армії. [Електронний ресурс] / Режим доступу: https://fakty.com.ua/ua/ukraine/20240129-skilky-vijskovyh-v-ukrayinskij-armiyi-zelenskyj-nazvav-czyfru/.
16. Що треба знати про добавки заліза. [Електронний ресурс] / Режим доступу: https://moz.gov.ua/article/health/scho-treba-znati-pro-dobavki-zaliza
17. Abbaspour, N., Hurrell, R., & Kelishadi, R. (2014). Review on iron and its importance for human health. *J. Res. Med. Sci.*, 19(2), 164–174.
18. Abdullah, M., Jamil, R. T., & Attia, F. N. (2023). Vitamin C (ascorbic acid). In *StatPearls [Internet]*. StatPearls Publishing.
19. Ahi, M., Hatamipour, M. S., & Goodarzi, A. J. D. T. (2010). Optimization of leavening activity of baker's yeast during the spray-drying process. *Drying Technology*, *28*(4), 490-494. doi:10.1080/07373931003613726.
20. Amarji, B., Kulkarni, A., Deb, P. K., Maheshwari, R., & Tekade, R. K. (2018). Package development of pharmaceutical products: Aspects of packaging materials used for pharmaceutical products. *In Dosage Form Design Parameters* (pp. 521-552). Academic Press. doi:10.1016/B978-0-12-814421-3.00015-4.

21. Aydinoglu, S. (2022). Iron and zinc determination in dietary supplements by flame atomic absorption spectrophotometry. *Braz. J. Pharm. Sci.* , 58, e21094. doi:10.1590/s2175-97902022e21094.
22. Balaban, B. G., Yılmaz, Ü., Alkım, C., Topaloğlu, A., Kısakesen, H. İ., Holyavkin, C., & Çakar, Z. (2019). Evolutionary engineering of an iron-resistant *Saccharomyces cerevisiae* mutant and its physiological and molecular characterization. *Microorganisms*, 8(1),43.doi:10.3390/microorganisms801004 3.
23. Barragán-Ibañez, G., Santoyo-Sánchez, A., & Ramos-Peñafiel, C. O. (2016). Iron deficiency anaemia. *Rev. Med. Hosp. Gen. Mex.*, 79(2), 88-97. doi:10.1016/j.hgmx.2015.06.008.
24. Begum, S. G., Hasmitha, Y., Reddy, U. G., Deepa, M., Reddy, K. S., & Susmitha, R. (2018). A review on manufacturing and evaluation of capsules. *World J. Pharm. Sci.*, 98-105.
25. Benson, C. S., Shah, A., Stanworth, S. J., Frise, C. J., Spiby, H., Lax, S. J., ... & Klein, A. A. (2021). The effect of iron deficiency and anaemia on women's health. *Anaesthesia*, *76*, 84-95. doi:10.1111/anae.15405.
26. Bhatia, A. (2012). HVAC design for pharmaceutical facilities. *CED Engineering*.
27. Bhattacharya, P. T., Misra, S. R., & Hussain, M. (2016). Nutritional aspects of essential trace elements in oral health and disease: an extensive review. *Scientifica*, 2016, 5464373. doi:10.1155/2016/5464373.
28. Britannica, T. Editors of Encyclopaedia (2016). Kjeldahl method. *Encyclopedia Britannica*. [Електронний ресурс] / Режим доступу: https://www.britannica.com/science/Kjeldahl-method.
29. Camaschella, C. (2015). Iron-deficiency anemia. *N. Engl. J. Med.*, 372(19), 1832-1843. doi: 10.1056/NEJMra1401038.
30. Camaschella, C. (2019). Iron deficiency. *Blood*, 133(1), 30-39. doi: 10.1182/blood-2018-05-815944.

31. Cappellini, M. D., Musallam, K. M., & Taher, A. T. (2020). Iron deficiency anaemia revisited. *J. Intern. Med.*, 287(2), 153-170. doi:10.1111/joim.13004.
32. Chen, X., Liu, K., Wang, L., Li, L., & Luo, Z. H. (2024). Multiscale models for tablet manufacturing process development. *Exploring Computational Pharmaceutics - AI and Modeling in Pharma 4.0*, 493-516. doi:10.1002/9781119987260.ch15.
33. Chen, Y., Pang, Y., Wan, H., Zhou, X., Wan, M., Li, S., & Liu, X. (2024). Production of iron-enriched yeast and it's application in the treatment of iron-deficiency anemia. *Research Square*. doi:10.21203/rs.3.rs-3769317/v1.
34. Chifman, J., Laubenbacher, R., & Torti, S. V. (2014). A systems biology approach to iron metabolism. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 844, 201–225. doi:10.1007/978-1-4939-2095-2_10.
35. Ciotea, D., & Popa, M. E. (2019). Trends on pharmaceutical packaging materials. *Sci. Bull. Ser. F. Biotechnol.*, 23, 137-142.
36. Coad, J., & Pedley, K. (2014). Iron deficiency and iron deficiency anemia in women. *Scand. J. Clin. Lab. Invest. Suppl.*, 74 (244), 82-89. doi:10.3109/00365513.2014.936694.
37. Dean, D. A., Evans, E. R., & Hall, I. H. (Eds.). (2005). Pharmaceutical packaging technology. *CRC Press*, 2000 – 646. doi:10.1201/b12651.
38. Denic, S., & Agarwal, M. M. (2007). Nutritional iron deficiency: an evolutionary perspective. *Nutrition*, 23(7-8), 603-614. doi: 10.1016/j.nut.2007.05.002.
39. Dillingh, J., & Smith, J. (2015). Containers. *In: Bouwman-Boer, Y., Fenton-May, V., Le Brun, P. (eds) Practical Pharmaceutics. Springer, Cham.* , 501-536. doi:10.1007/978-3-319-15814-3_24.
40. Gaensly, F., Picheth, G., Brand, D., & Bonfim, T. (2014). The uptake of different iron salts by the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Braz. J. Microbiol.*, 45, 491-494. doi:10.1590/s1517-83822014000200016.
41. Gaensly, F., Wille, G. M. F. D. C., Brand, D., & Bonfim, T. M. B. (2011). Iron enriched *Saccharomyces cerevisiae* maintains its fermenting power and bakery

properties. *Food Sci. Technol.*, 31, 980-983. doi:10.1590/s0101-20612011000400025.

42. GEA pharma separator aseptic C. [Електронний ресурс] / Режим доступу: https://www.gea.com/en/products/centrifuges-separation/centrifugal-separator/clarifier/pharma-separator-aseptic-c/.
43. Gozzelino, R., & Arosio, P. (2016). Iron homeostasis in health and disease. *Int. J. Mol. Sci.*, 17(1), 130. doi:10.3390/ijms17010130.
44. Guarve, K., & Kriplani, P. (2021). HPMC-a marvel polymer for pharmaceutical industry-patent review. *Recent. Adv. Drug. Deliv. Formul.*, 15(1), 46-58. doi:10.2174/1872211314666210604120619.
45. Gupta, Dr. (2014). Role of Iron (Fe) in Body. *IOSR Journal of Applied Chemistry*, 7, 38-46. doi:10.9790/5736-071123846.
46. Hoag, S. W. (2017). Capsules dosage form: formulation and manufacturing considerations. *In Developing solid oral dosage forms* (pp. 723-747). doi:10.1016/B978-0-12-802447-8.00027-3.
47. Hota, R., Panda, S., & Mishra, S. R. (2018). A Review on vegetarian capsules. *World Journal of Pharmaceutical Research [Internet]*, 7(9), 316-323. doi:10.20959/wjpr20189-12110.
48. Izário Filho, H. J., dos Santos Salazar, R. F., da Rosa Capri, M., Neto, Â. C., de Alcântara, M. A. K., & de Castro Peixoto, A. L. (2012). State-of-the-art and trends in atomic absorption spectrometry. In Atomic Absorption Spectroscopy. *IntechOpen*. doi:10.5772/26076.
49. Kieliszek, M., Błażejak, S., Bzducha-Wróbel, A., & Kot, A. M. (2019). Effect of selenium on lipid and amino acid metabolism in yeast cells. *Biol. Trace. Elem. Res.*, *187*(1), 316–327. doi:10.1007/s12011-018-1342-x.
50. Kontoghiorghes, G. J., Kolnagou, A., Kontoghiorghe, C. N., Mourouzidis, L., Timoshnikov, V. A., & Polyakov, N. E. (2020). Trying to solve the puzzle of the interaction of ascorbic acid and iron: Redox, chelation and therapeutic implications. Medicines, 7(8), 45. doi:10.3390/medicines7080045.

51. Kosman, D. J. (2003). Molecular mechanisms of iron uptake in fungi. *Mol. Microbiol.* , 47(5), 1185-1197. doi:10.1046/j.1365-2958.2003.03368.x.
52. Kothawade, S., Pande, V., Wagh, V., Autade, K., Bole, S., Sumbe, R., & Albhar, S. (2024). Perspective chapter: pharmaceutical drying. *IntechOpen*. doi: 10.5772/intechopen.112941.
53. Kumar, S. B., Arnipalli, S. R., Mehta, P., Carrau, S., & Ziouzenkova, O. (2022). Iron deficiency anemia: efficacy and limitations of nutritional and comprehensive mitigation strategies. *Nutrients*, 14(14), 2976. doi:10.3390/nu14142976.
54. Kwok, E., & Kosman, D. (2006). Iron in yeast: mechanisms involved in homeostasis. *Molecular Biology of Metal Homeostasis and Detoxification: From Microbes to Man*, 59-99. doi:10.1007/4735_92.
55. Lee, N. H. (2020). Iron deficiency anemia. *Clin. Pediatr. Hematol. Oncol.*, 27(2), 101-112. doi:10.15264/cpho.2020.27.2.101.
56. Li, N., Zhao, G., Wu, W., Zhang, M., Liu, W., Chen, Q., & Wang, X. (2020). The efficacy and safety of vitamin c for iron supplementation in adult patients with iron deficiency anemia: a randomized clinical trial. JAMA Network Open, 3(11), e2023644. doi:10.1001/jamanetworkopen.2020.23644.
57. Liberal, A., Pinela, J., Vívar-Quintana, A. M., Ferreira, I. C. F. R., & Barros, L. (2020). Fighting iron-deficiency anemia: innovations in food fortificans and biofortification strategies. *Foods*, 9(12), 1871. doi:10.3390/foods9121871.
58. LPG High Speed Centrifugal Spray Dryer. [Електронний ресурс] / Режим доступу: https://www.jqspray.com/Product/LPG-High-Speed-Centrifugal-Spray-Dryer.html.
59. Luna-Solano, G., Salgado-Cervantes, M. A., Rodríguez-Jimenes, G. C., & García-Alvarado, M. A. (2005). Optimization of brewer's yeast spray drying process. *J. Food Eng.*, *68*(1), 9-18. doi:10.1016/j.jfoodeng.2004.05.019.
60. Majee, S. B., Avlani, D., & Biswas, G. R. (2017). HPMC as capsule shell material: physicochemical, pharmaceutical and biopharmaceutical

properties. Int. J. Pharm. Pharm. Sci., 9(10), 1-6. doi:10.22159/ijpps.2017v9i10.20707.

61. Mazeika, K., Siliauskas, L., Skridlaite, G., Matelis, A., Garjonyte, R., Paskevicius, A., & Melvydas, V. (2021). Features of iron accumulation at high concentration in pulcherrimin-producing *Metschnikowia* yeast biomass. *J. Biol. Inorg. Chem.*, 26(2-3), 299-311. doi: 10.1007/s00775- 021-01853-z.
62. Monteagudo-Mera, A., Shalunkhe, A., Duhduh, A., Walton, G. E., Gibson, G. R., Pereira, D. I., Wijeyesekera, A., & Andrews, S. C. (2023). Impact of inorganic iron and haem on the human gut microbiota; An in vitro batch-culture approach. *Front. Microbiol.*, 14, 1074637. doi:10.3389/fmicb.2023.1074637.
63. Nasa, P. (2014). A review on pharmaceutical packaging material. World J. Pharmaceut. Res., 3(5), 344-368.
64. Nhu, P. Q., Uyen, T. T., Vuong, P. M., & Thao, P. T. (2020). Optimization of culture conditions of iron-enriched biomass of *Saccharomyces pastorianus* by response surface methodology. *VJSTE*, 62(2), 48-55. doi:10.31276/VJSTE.62(2).48-55.
65. Nowosad, K., & Sujka, M. (2021). The use of iron-enriched yeast for the production of flatbread. *Molecules*, 26(17), 5204. doi:10.3390/molecules26175204.
66. Nowosad, K., & Sujka, M. (2021). The use of iron-enriched yeast for the production of flatbread. Molecules, 26(17), 5204. doi:10.3390/molecules26175204.
67. Nowosad, K., Sujka, M., & Wyrostek, J. (2023). Preparation of yeast flakes enriched with iron and vitamin B12 using a pulsed electric field technology. *J. Food Eng.*, 46(2), e14245. doi:10.1111/jfpe.14245.
68. Nowosad, K., Sujka, M., Pankiewicz, U., Miklavčič, D., & Arczewska, M. (2021). Pulsed electric field (PEF) enhances iron uptake by the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Biomolecules*, 11(6), 850. doi:10.3390/biom11060850.

69. Nyamweya, N., & Kimani, S. (2020). Chewable tablets: A review of formulation considerations. Pharm. Technol. , 44(11), 38-44.
70. Pal, R., Pandey, P., Thakur, S. K., Khadam, V. K. R., Dutta, P., Chawra, H. S., & Singh, R. P. (2024). The significance of pharmaceutical packaging and materials in addressing challenges related to unpacking pharmaceutical products. IJPHI, 1(3), 149-173.
71. Pandey, P., Pal, R., Kavya, A. C., & Singh, R. P. (2023). The various types of packaging and their materials in the pharmaceutical products or formulations. GIS-Zeitschrift fü Geoinformatik, 10(3):1802-1829.
72. Pas, M., Piskur, B., Sustaric, M., & Raspor, P. (2007). Iron enriched yeast biomass – A promising mineral feed supplement. *Bioresour. Technol.*, 98(8), 1622–1628. doi:10.1016/j.biortech.2006.06.00.
73. Patel, A. V., Trambadiya, D. A., & Baldania, L. (2013). Water quality for pharmaceutical use: a review. Pharma Sci. Monit., 4(3).
74. Patil, N., Yadav, A., & Jain, D. K. (2024). Exploring the versality of chewable tablets: a comprehensive analysis. IJPDD. doi:10.62896/mg0v6x34.
75. PHIL™ 5000. [Електронний ресурс] / Режим доступу: https://www.scayl.co.uk/products/phil-5000-weighing-filling-machine.
76. Prakash, A., Soni, H., Mishra, A., & Sarma, P. (2017). Are your capsules vegetarian or nonvegetarian: An ethical and scientific justification. Indian. J. Pharmacol., 49(5), 401–404. doi:10.4103/ijp.IJP_409_17.
77. Prashanth, L., Kattapagari, K. K., Chitturi, R. T., Baddam, V. R. R., & Prasad, L. K. (2015). A review on role of essential trace elements in health and disease. *Journal of Dr. YSR University of Health Sciences*, 4(2), 75-85. doi: 10.4103/2277-8632.158577.
78. Rahman, M. A., Khan, M. N., & Rahman, M. M. (2020). Maternal anaemia and risk of adverse obstetric and neonatal outcomes in South Asian countries: A systematic review and meta-analysis. *Public health in practice*, 1, 100021. doi:10.1016/j.puhip.2020.100021.

79. Ramos-Alonso, L., Romero, A. M., Martínez-Pastor, M. T., & Puig, S. (2020). Iron regulatory mechanisms in *Saccharomyces cerevisiae*. *Front. Microbiol.*, 11, 582830. doi:10.3389/fmicb.2020.582830.
80. Rodríguez-Pombo, L., Awad, A., Basit, A. W., Alvarez-Lorenzo, C., & Goyanes, A. (2022). Innovations in chewable formulations: the novelty and applications of 3D printing in drug product design. Pharmaceutics, 14(8), 1732. doi:10.3390/pharmaceutics14081732.
81. Rögener, F. (2024). Increasing the sustainability of pharmaceutical grade water production. Chemie Ingenieur Technik, 96(4), 522-527. doi:10.1002/cite.202300152.
82. Rutala, W. A., & Weber, D. J. (2014). Selection of the ideal disinfectant. Infection Control & Hospital Epidemiology, 35(7), 855-865. doi:10.1086/676877.
83. Sabatier, M., Egli, I., Hurrell, R., Hoppler, M., Gysler, C., Georgeon, S., ... & Schaffer-Lequart, C. (2017). Iron bioavailability from fresh cheese fortified with iron-enriched yeast. *Eur. J. Nutr.*, 56, 1551-1560. doi: 10.1007/s00394-016-1200-6.
84. Sabee, M. M. S. M., Uyen, N. T. T., Ahmad, N., & Hamid, Z. A. A. (2021). Plastics packaging for pharmaceutical products. Reference Module in Materials Science and Materials Engineering; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands. doi:10.1016/B978-0-12-820352-1.00088-2.
85. Sáez-Plaza, P., Michałowski, T., Navas, M. J., Asuero, A. G., & Wybraniec, S. (2013). An overview of the Kjeldahl method of nitrogen determination. Part I. Early history, chemistry of the procedure, and titrimetric finish. *Crit. Rev. Anal. Chem. In Revision.*, 43(4), 178-223. doi: 10.1080/10408347.2012.751786
86. Sáez-Plaza, P., Navas, M. J., Wybraniec, S., Michałowski, T., & Asuero, A. G. (2013). An Overview of the Kjeldahl Method of Nitrogen Determination. Part II. Sample Preparation, Working Scale, Instrumental Finish, and Quality Control. *Critical Reviews in Analytical Chemistry, 43*(4), 224–272. doi:10.1080/10408347.2012.751787.

87. Sandle, T. (2014). Sanitation of pharmaceutical facilities. J. GXP Compliance, 18(3), 6-10.
88. Sandle, T. (2021). A global disinfectant standard for cleanrooms: presenting a harmonised approach. Journal of Parenteral and Pharmaceutical Sciences, 26(1).
89. Santos, D., Maurício, A. C., Sencadas, V., Santos, J. D., Fernandes, M. H., & Gomes, P. S. (2018). Spray Drying: An Overview. *InTech.* doi: 10.5772/intechopen.72247.
90. Scheme, P. I. C. O. (2009). Guide to good manufacturing practice for medicinal products. Annexes PE, 009-6.
91. Shaw, J. G., & Friedman, J. F. (2011). Iron deficiency anemia: focus on infectious diseases in lesser developed countries. *Anemia*, 2011, 260380. doi:10.1155/2011/260380.
92. Sheikh, A. B., Javed, N., Ijaz, Z., Barlas, V., Shekhar, R., & Rukov, B. (2021). Iron deficiency anemia in males: a dosing dilemma? *J. Community Hosp. Intern. Med. Perspect.*, 11(1), 46-52.doi: 10.1080/20009666.2020.1831743.
93. Shenvi, A., Kamath, K. K., Subrahmanyam, E. V. S., & Shabaraya, A. R. (2021). Significance of personnel hygiene practices in pharmaceutical industry. International Journal of Drug Regulatory Affairs, 9(4), 1-5. doi:10.22270/ijdra.v9i4.493.
94. Skolmowska, D., & Głąbska, D. (2019). Analysis of heme and non-heme iron intake and iron dietary sources in adolescent menstruating females in a national polish sample. *Nutrients*, 11(5), 1049. doi:10.3390/nu11051049.
95. Sohail Arshad, M., Zafar, S., Yousef, B., Alyassin, Y., Ali, R., AlAsiri, A., Chang, M. W., Ahmad, Z., Ali Elkordy, A., Faheem, A., & Pitt, K. (2021). A review of emerging technologies enabling improved solid oral dosage form manufacturing and processing. Adv. Drug. Deliv. Rev., 178, 113840. doi:10.1016/j.addr.2021.113840
96. Srividya, B., & Reddy, C. S. (2014). Capsules and it's technology: an overview. Int. J. Pharmaceutics Drug Anal., 2(9), 727-33.

97. Stoffel, N. U., von Siebenthal, H. K., Moretti, D., & Zimmermann, M. B. (2020). Oral iron supplementation in iron-deficient women: How much and how often?. Mol. Asp. Med. , 75, 100865. doi:10.1016/j.mam.2020.100865.

98. Sun, J., Xu, S., Du, Y., Yu, K., Jiang, Y., Weng, H., & Yuan, W. (2022). Accumulation and enrichment of trace elements by yeast cells and their applications: a critical review. *Microorganisms*, 10(9), 1746. doi: 10.3390/microorganisms10091746.

99. Tafazzoli, K., Ghavami, M., & Khosravi-Darani, K. (2023). Production of iron enrisched *Saccharomyces boulardaii*: impact of process variables. *Research Square*. doi:10.21203/rs.3.rs-3094981/v1.

100. Timmer, T. C., de Groot, R., Rijnhart, J. J., Lakerveld, J., Brug, J., Perenboom, C. W., ... & van den Hurk, K. (2020). Dietary intake of heme iron is associated with ferritin and hemoglobin levels in dutch blood donors: results from donor insight. *Haematologica*, 105(10), 2400. doi:10.3324/haematol.2019.229450.

101. Ubhe, T. S., & Gedam, P. (2020). A brief overview on tablet and it's types. Journal of Advancement in Pharmacology, 1(1), 21-31.

102. Vogt, A. C. S., Arsiwala, T., Mohsen, M., Vogel, M., Manolova, V., & Bachmann, M. F. (2021). On iron metabolism and its regulation. *Int. J. Mol. Sci.*, 22(9), 4591. doi:10.3390/ijms22094591.

103. Walker, G. M. (2004). Metals in yeast fermentation processes. *Adv. Appl. Microbiol.*, 54, 197-230. doi: 10.1016/S0065-2164(04)54008-X.

104. Wang, S., Tan, Z., Wang, C., Liu, W., Hang, F., He, X., Ye, D., Li, L., & Sun, J. (2023). Iron competition as an important mechanism of pulcherrimin-producing *Metschnikowia sp.* strains for controlling postharvest fungal decays on citrus fruit. *Foods*, 12(23), 4249. doi:10.3390/foods12234249.

105. Water in Pharma. [Електронний ресурс] / Режим доступу: https://www.allfordrugs.com/water-in-pharma/

106. Yuan, Y., Guo, X., He, X., Zhang, B., & Liu, S. (2004). Construction of a high-biomass, iron-enriched yeast strain and study on distribution of iron in the

cells of *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnol. Lett.*, 26, 311-315. doi:10.1023/B:BILE.0000015449.30186.90

107. Zakhartsev, M., & Reuss, M. (2018). Cell size and morphological properties of yeast *Saccharomyces cerevisiae* in relation to growth temperature. *FEMS yeast research*, 18(6). doi:10.1093/femsyr/foy052.

108. Zarei, O., Dastmalchi, S., & Hamzeh-Mivehroud, M. (2016). A simple and rapid protocol for producing yeast extract from *Saccharomyces cerevisiae* suitable for preparing bacterial culture media. *Iran. J. Pharm. Res.*, 15(4), 907–913.

109. Zeng, Y., Jiang, L., Zhou, B., Liu, Y., Wang, L., Hu, Z., Wang, C., & Tang, Z. (2023). Effect of high efficiency digestion and utilization of organic iron made by *Saccharomyces cerevisiae* on antioxidation and caecum microflora in weaned piglets. *Animals*, 13(3), 498. doi:10.3390/ani13030498.

110. Zhang, X. G., Wang, N., Ma, G. D., Liu, Z. Y., Wei, G. X., & Liu, W. J. (2021). Preparation of S-iron-enriched yeast using siderophores and its effect on iron deficiency anemia in rats. *Food Chem.*, 365, 130508. doi:10.1016/j.foodchem.2021.130508.

111. Zimmermann, M. B., & Hurrell, R. F. (2007). Nutritional iron deficiency. *The lancet*, 370(9586), 511-520. doi: 10.1016/S0140-6736(07)61235-5.

ДОДАТКИ

Додаток 1

Негретова В., Красінько В. Біотехнологічні особливості одержання дріжджів, збагачених залізом // Матеріали 90 Ювілейної Міжнародної наукової конференції молодих учених, аспірантів і студентів «Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у XXI столітті» (м. Київ, НУХТ, 11-12 квітня 2024 р.). – Ч. 1. – С. 410.

Матеріали 90 Міжнародної наукової конференції молодих учених, аспірантів і студентів "Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у XXI столітті", 11–12 квітня 2024 р. – Київ: НУХТ. – Ч.1.

42. **Біотехнологічні особливості одержання дріжджів, збагачених залізом**

Вікторія Негретова, Вікторія Красінько
Національний університет харчових технологій, Київ, Україна

Вступ. Залізодефіцитна анемія (ЗДА) є поширеною медичною проблемою, яка охоплює приблизно 30-50% населення світу, і може призводити до серйозних наслідків для здоров'я. Для подолання ЗДА існують перспективи використання біотехнологічних методів для підвищення вмісту заліза в дріжджах, що може забезпечити ефективний інструмент для боротьби з дефіцитом заліза через харчові продукти та добавки [1].

Матеріали та методи. Пошук та ґрунтовний аналіз сучасної наукової літератури, присвяченої дослідженню біотехнологічних особливостей одержання дріжджів, збагачених залізом здійснювався шляхом опрацювання таких інформаційних джерел цитування як: PubMed, Google Scholar та Elsevier.

Результати та обговорення. Для стимулювання накопичення заліза у клітинах дріжджів, використовують різні методи, включаючи імпульсне електричне поле, додавання сидерофорів, оптимізацію параметрів культивування (таких як pH, температура, тривалість процесу) і вибір найкращого джерела заліза та його концентрації. Це дозволяє досягти максимальної акумуляції заліза, не пригнічуючи ріст біологічного агента.

Дослідження науковців показало, що імпульсне електричне поле (ІЕП) збільшує накопичення заліза в клітинах *S. cerevisiae*. За концентрації іонів заліза 200 мкг/мл кількість накопиченого внутрішньоклітинного заліза зросла з 18,68 мг/г сухої маси (для контрольної культури не обробленої ІЕП) до 48,01 мг Fe/г сухої маси [2].

Виробництво збагачених залізом дріжджів залежить не лише від вмісту заліза в клітинах, а й від виходу біомаси. Як правило, висока концентрація біомаси супроводжується низьким вмістом заліза або високий вміст заліза в клітинах супроводжувався низькою біомасою штамів. Для вирішення даної проблеми застосовували технологію генетичної селекції – злиття протопластів. За оптимальних умов культивування концентрація біомаси та вміст заліза в штамі досягали 11 г/л і 25 мг Fe/г сухих речовин клітини відповідно[3].

Висновки. Встановлено, що одним з можливих факторів досягнення максимального накопичення заліза у дріжджах є застосування імпульсного електричного поля. Збагачені залізом дріжджі містять значні кількості органічного заліза, яке зберігається в їх клітинних стінках і вакуолях. Харчова добавка на основі залізозбагачених дріжджів може стати новим і в рази безпечнішим рішенням для запобігання розвитку ЗДА, оскільки таке джерело заліза є менш токсичне і має кращу біодоступність.

Література

1. Lee, N. H. (2020). Iron deficiency anemia. *Clin Pediatr Hematol Oncol*, 27(2), 101-112. doi:10.15264/cpho.2020.27.2.101.
2. Nowosad, K., Sujka, M., Pankiewicz, U., Miklavčič, D., & Arczewska, M. (2021). Pulsed electric field (PEF) enhances iron uptake by the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Biomolecules*, 11(6), 850. doi:10.3390/biom11060850.
3. Yuan, Y., Guo, X., He, X., Zhang, B., & Liu, S. (2004). Construction of a high-biomass, iron-enriched yeast strain and study on distribution of iron in the cells of *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnol. Lett.*, 26, 311-315. doi:10.1023/B:BILE.0000015449.30186.90

Додаток 2

Негретова В.В., Красінько В.О. Біотехнологічні особливості одержання дріжджів, збагачених різними мікроелементами // Матеріали IV міжнародної науково-практичної Інтернет-конференції «Проблеми та досягнення сучасної біотехнології» (Харків, 22, березня 2024 р.). – С. 290-291.

Біотехнологічні особливості одержання дріжджів,
збагачених різними мікроелементами

Негретова В.В., Красінько В.О.
Національний університет харчових технологій, Київ, Україна
negretovavictoria02@gmail.com

Мікроелементи відіграють велику роль у здоров'ї людей, а їх нестача може викликати серйозні проблеми. Тому перспективи використання біотехнологічних методів для підвищення вмісту мікроелементів у дріжджах може забезпечити ефективний інструмент для боротьби з їх дефіцитом через харчові продукти та добавки [1].

Селен, важливий для людини мікроелемент, який бере участь в антиоксидантному захисті та окисно-відновній регуляції. Дефіцит Se може вплинути на імунну, репродуктивну системи та функцію щитовидної залози.

Оптимізація умов культивування та ультразвукової обробки для стимуляції росту та біотрансформації селену у *Saccharomyces cerevisiae* за використання методу скринінгу Плакетта–Бермана та методології поверхні відповіді дозволила встановити, що оптимізація параметрів культивування і застосування ультразвуку призводять до успішного збільшення (у 2,78 разів) накопичення селену клітинами *S. cerevisiae* [2].

Цинк є одним з найважливіших і незамінних мікроелементів у клітинах. Він відіграє важливу роль у багатьох ферментних системах і бере участь у багатьох біологічних процесах, таких як ферментативний каталіз, редокс регуляція, передача клітинного сигналу, імунна система та функціонування нейронів.

Штам *Saccharomyces cerevisiae* 11B1 обробляли імпульсним електричним полем для покращення накопичення цинку в біомасі. За оптимізованих умов, біоакумуляція цинку в дріжджовій біомасі досягла максимуму 15,57 мг/г [3].

Селен-цинк-хром є важливим поєднанням мікроелементів для людей і тварин, але вільна форма селен-цинку-хрому не легко засвоюється і є дуже токсичною.

Для вивчення здатності дріжджів до збагачення селеном, цинком і хромом відповідно, використовували кратність збагачення та коефіцієнт конверсії як індикатори скринінгу. *Saccharomyces boulardii* L2 є штамом із кращим ефектом збагачення селеном, цинком і хромом одночасно. За умови додавання до середовища культивування селеніту натрію (30 мкг/мл), сульфату цинку (200 мкг/мл) і хлориду хрому (100 мкг/мл) було отримано вміст селену в дріжджах – 917,37 мкг/г, вміст цинку – 1202,3 мкг/г та вміст хрому – 680,11 мкг/г. Біомаса становила 19,58 г/л [4].

У даній роботі ми зосередились на аналізі наукових статей для визначення біотехнологічних особливостей одержання дріжджів, збагачених різними мікроелементами. Розробка ефективних методів збагачення дріжджів мікроелементами відкриває перспективи для створення продуктів харчування, які мають підвищений вміст важливих мікроелементів та високу біодоступність. Такі продукти можуть стати ефективним інструментом у боротьбі з дефіцитом мікроелементів та підвищенні загального рівня здоров'я населення.

Література

1. Sun, J., Xu, S., Du, Y., Yu, K., Jiang, Y., Weng, H., & Yuan, W. (2022). Accumulation and enrichment of trace elements by yeast cells and their applications: a critical review. *Microorganisms*, 10(9), 1746. doi:10.3390/microorganisms10091746.
2. Alijan, S., Hosseini, M., Esmaeili, S., & Khosravi-Darani, K. (2022). Impact of ultrasound and medium condition on production of selenium-enriched yeast. *Electron. J. Biotechnol.*, 60, 36-42. doi:10.1016/j.ejbt.2022.09.004.
3. Sillerova, S., Lavova, B., Urminska, D., Polakova, A., Vollmannova, A., & Harangozo, L. (2021). Preparation of zinc enriched yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) by cultivation with different zinc salts. *JMBFS*, 2021, 689-695.
4. Alijan, S., Hosseini, M., Esmaeili, S., & Khosravi-Darani, K. (2022). Impact of ultrasound and medium condition on production of selenium-enriched yeast. *Electron. J. Biotechnol*., 60, 36-42. doi:10.1016/j.ejbt.2022.09.004.