



НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

НАУКОВИЙ ЖУРНАЛ

37

Харчова
ПРОМИСЛОВІСТЬ

Заснований у 1965 р.

Київ НУХТ 2025

УДК 622.73:602

BEAD MILLS FOR DESTRUCTION OF MICROBIAL CELLS IN PRODUCTION OF MICROBIAL SYNTHESIS PRODUCTS

M. Kasyniuk, K. Hrininh, A. Ponomarenko, O. Gubenia, K. Omelianenko
National University of Food Technologies

Key words:

microorganism,
destruction,
beads,
mill,
structure

Article history:

Received 17.01.2025

Received in revised form
21.03.2025

Accepted 25.03.2025

Corresponding author:

vaz2115turbobit@gmail.com

ABSTRACT

The method of disruption the microorganism cells in bead mills is used to disrupt the cells of mycelial fungi, yeasts and certain types of unicellular algae, with the aim of further extracting a wide range of valuable components from the liquid or solid phase of cells — proteins, polysaccharides, lipids, enzymes, biodegradable polymers, amino acids, vitamins and other substances with therapeutic properties.

The bead mill consists of the following main parts: working chamber; working elements; working bodies (beads); bead separator; cooling jacket of the working chamber; suspension circulation system; suspension cooling system; drive of working elements; drive of the bead separator; frame; fixing device of the working chamber.

The orientation of the working chamber — vertical, horizontal and conical affects its functionality and slightly affects productivity.

The working elements of bead mills are discs, fingers or turbines. Disc working elements can have a flat surface or grooves (gaps) — blind and through, straight and complex, usually spiral-shaped. The main purpose of the grooves is to create intensive circulation of beads in the working chamber of the mill. The rotational speed of the working elements of the bead mill is usually 1000—2500 rpm.

The diameter of beads for disruption of the microbial cells is usually 0.4—0.6 mm; the turbine-type working elements allows the use of a smaller bead size. The slot, cartridge and centrifugal separators can be used for separation the processed suspension of microorganisms from the beads. Most often, a combination of a cartridge and centrifugal separator is used.

The proposed classification of bead mills and its elements can be used in educational literature, as well as when choosing conditions and modes of destruction of microbial cells and intensification of the process.

DOI: 10.24263/2225-2916-2025-37-20

БІСЕРНІ МЛИНИ ДЛЯ РУЙНУВАННЯ КЛІТИН МІКРООРГАНІЗМІВ У ВИРОБНИЦТВІ ПРОДУКЦІЇ МІКРОБНОГО СИНТЕЗУ

М. О. Касинюк, ORCID ID: 0009-0000-2273-6797

К. Р. Грінінг, ORCID ID: 0009-0003-3927-7672

А. М. Пономаренко

О.О. Губеня, канд. техн. наук, ORCID ID: 0000-0003-2773-4373

К. А. Омеляненко, аспірант, ORCID ID: 0009-0007-7142-5056

Національний університет харчових технологій

Огляд охоплює аналіз продуктів мікробного синтезу, технологія отримання яких включає механічне руйнування клітин; способи і режими руйнування клітин мікроорганізмів у бісерних млинах; узагальнені машинно-апаратні схеми оброблення суспензій мікроорганізмів, які передбачають руйнування їх клітин на прикладі виробництва бета-глюкану, інсуліну та продуктів комплексного перероблення одноклітинних водоростей; аналіз структури та конструкцій бісерних млинів, їх робочих камер, робочих органів і робочих тіл (бісеру) та сепараторів для відділення суспензії від бісеру.

Ключові слова: руйнування, надтонке подрібнення, клітина, бісерний млин, машинно-апаратна схема, мікробний синтез.

Вступ. Бактерії, дріжджі, гриби та одноклітинні водорості продукують білки, жири, полісахариди та різноманітні біологічно активні сполуки, зокрема із терапевтичними властивостями, які складно або неможливо синтезувати хімічними методами. Ці речовини знаходяться в рідкій фазі клітини (цитоплазмі) та клітинній стінці. Вони можуть бути виділені із клітин і використані у виробництві харчових добавок, кормів, біорозкладних плівок, добрив, косметики, лікарських засобів та біопалива [11, 34, 66].

Зазвичай, для отримання цінних компонентів клітини мікроорганізмів потрібно зруйнувати для вивільнення практично цінних метаболітів [27].

Відомі такі методи руйнування клітин мікроорганізмів:

Немеханічні методи:

- заморожування-розморожування [4];
- оброблення у полі надвисокої частоти [48];
- осмотичний шок (проникнення великої кількості рідини у клітину і її розрив) [59];
- у полі електричних розрядів [4];
- хімічні методи із використанням розчинників (толуол, ефір, бензол, метанол, етилендіамінтетраоцтова кислота, поверхнево-активні речовини та фенілетилловий спирт) [27];
- ферментативні методи (використання ферментів, які руйнують стінку клітини) [19].

Механічні методи [4, 97]:

- оброблення у бісерних млинах за рахунок напружень зсуву, стискання і удару, які виникають у клітині під час контакту з бісером;
- ультразвуковий метод, який включає оброблення охолодженої суспензії ультразвуковими хвилями;

- у гомогенізаторах високого тиску, продавлюванням клітинної суспензії через довгу тонку щілину;

- механічна гомогенізація у високошвидкісних блендерах лопатевого типу, проте цей метод більш доцільний для руйнування тканин.

Руйнування клітин мікроорганізмів, наприклад, дріжджів, у лабораторних умовах можливо в ступці бісером, що теж відноситься до механічних методів [4].

В усіх згаданих методах оброблюються водна суспензія клітин, хоча відомі окремі випадки оброблення замороженої біомаси клітин у бісерних млинах [80].

Представники компаній, які виготовляють обладнання для руйнування клітин мікроорганізмів як у лабораторному, так і промисловому масштабі, наголошують, що нині перевага надається механічним методам руйнування клітин мікроорганізмів через високу продуктивність, уникнення контамінації і збереження корисних компонентів [80].

Тема руйнування клітин мікроорганізмів у промислових масштабах розкрита в науковій та довідковій літературі недостатньо. Наявний брак систематизованої інформації про структуру, класифікацію та режими роботи обладнання для механічно-го руйнування, зокрема бісерних млинів.

У пропонованому огляді **поставлено за мету** систематизувати інформацію про руйнування клітин мікроорганізмів у бісерних млинах, зокрема:

- систематизувати інформацію про продукти мікробного синтезу, які отримуються із застосуванням механічних способів руйнування клітин мікроорганізмів;

- розглянути способи і режими руйнування клітин мікроорганізмів у бісерних млинах;

- скомпонувати типові машинно-апаратурні схеми біотехнологічних виробництв із застосуванням бісерних млинів;

- описати конструкції бісерних млинів і запропонувати їх класифікацію.

Матеріали і методи. Розглядаються способи та обладнання для руйнування клітин мікроорганізмів — бактерій, дріжджів, міцеліальних грибів і мікроводоростей у бісерних млинах.

Морфологічний аналіз кластерів наукових знань про руйнування клітин мікроорганізмів у бісерних млинах виконано на основі презентацій і рекламної інформації виробників технологій та обладнання, а також наукових статей за тематикою руйнування клітин мікроорганізмів і суміжних напрямків.

Результати і обговорення. *Термінологія.* Процес порушення цілісності клітини мікроорганізмів правильно називати «руйнування» (англ. — *disruption*). У науковій літературі також зустрічаються терміни «подрібнення» (англ. — *grinding*), «дезінтеграція» (англ. — *disintegration*). Проте завдання подрібнити клітину на частини не ставиться, зазвичай потрібно порушити цілісність її стінки [97].

Термін «дезінтеграція» з точки зору механічної інженерії означає «процес, коли щось стає слабшим або руйнується шляхом розбиття на менші частини або шматки» [16], проте у біотехнології він також означає «процес незворотного порушення анатомічної цілісності клітин». Тому для уникнення подвійного розуміння в огляді використано лише термін «руйнування».

Для опису руйнування клітин мікроорганізмів шляхом пропускання їх суспензії під високим тиском через тонку щілину традиційно використовують термін «гомогенізація» (англ. — *homogenization*) або «гомогенізація високим тиском» (англ. — *high pressure homogenization*, абр. НРН). В інженерії термін «гомогенізація» означає

процес перетворення незмішуваних рідин у емульсію шляхом механічного перемішування, хімічного чи температурного впливу на них [47]. Під цим терміном також розуміють поєднані процеси подрібнення та рівномірного розподілу частинок у суспензії або емульсії [99]. Хоча клітину не потрібно подрібнювати і рівномірно розподіляти її частинки у суспензії, проте термін «гомогенізація» став загальнозжованим для опису руйнування клітин під тиском у вузькій щілині (див. табл. 2).

Продукти мікробного синтезу, технологія отримання яких включає механічне руйнування клітин. Таблиця 1 демонструє різноманітність цінних речовин, синтезованих мікроорганізмами, для отримання яких необхідним етапом є руйнування клітинної стінки.

Таблиця 1. Продукти мікробного синтезу, технологія отримання яких включає механічне руйнування клітин

| Мікроорганізм | Продукти, які отримують | Джерело |
|---|--|---------|
| Дріжджі та міцеліальні гриби | | |
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | Фермент глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа | 83 |
| | Фермент інвертази | |
| | Вивільнений розчинний білок | |
| <i>S. uvarum, S. carlsbergensis</i> | Бета-глюкан | 7, 8 |
| <i>S. cerevisiae</i> | Біомолекули для синтезу біопалива | 27 |
| <i>Kluyveromyces marxianus</i> | Протеїни | |
| <i>Aspergillus flavus</i> | Фермент каталаза | 38 |
| | Афлатоксини | |
| <i>Mortierella isabellina</i> | Ліпіди | 62 |
| Одноклітинні водорості | | |
| <i>Chlorella vulgaris</i> | Протеїни | 43 |
| | Ліпіди | 2 |
| | Білки | 69 |
| | Пігменти (хлорофіли та каротиноїди), α -токоферол | |
| | Полісахарид β -1,3-глюкан | 60 |
| | Рекомбінантні білки | 88 |
| <i>Chlorella sorokiniana</i> | Ліпіди | 59 |
| <i>Scenedesmus</i> sp. | Ліпіди | 59 |
| | Рекомбінантні білки | 88 |
| <i>Botryococcus</i> sp. | Ліпіди | 62 |
| <i>Phaeodactylum tricornutum</i> | Ліпіди | |
| <i>Tetradesmus dimorphus</i> | Метиллові ефіри жирних кислот (компоненти біодизелю) | 42, 59 |
| <i>Euglena gracilis</i> | Вітамін Е | 60 |
| <i>Tetraselmis suecica</i> | Ліпіди | 59, 76 |
| <i>N. Gaditana, Tetraselmis suecica</i> | Ліпіди | 58, 59 |
| <i>Nannochloropsis oculata</i> | Вітаміни групи В, D3 і K2 | 44, 50 |
| | Поліненасичені жирні кислоти, зокрема, ейкозапентаєнова кислота, пігмент зеаксантин, α -токоферол | 60 |
| <i>Nannochloropsis</i> sp. | Протеїни, ліпіди, поліненасичені жирні кислоти | 13, 69 |
| | Ліпіди | 89 |
| <i>Neochloris oleoabundans</i> | Білки, ліпіди | 70 |
| <i>N. oceanica, T. suecica, N. gaditana</i> | Білки, вуглеводи і ліпіди | 58 |

Продовження таблиці 1

| | | |
|--|--|------------|
| <i>Porphyridium cruentum</i> | Жирні кислоти, ліпіди, пігменти | 50 |
| | Вуглеводи, екзополісахариди | 63 |
| | Сульфатовані полісахариди | 50 |
| | Пігмент фікоеритрин | 79 |
| <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> | Антитіла, вакцини, еритропоетин і рекомбінантний білок 28(VP28) | 60, 88 |
| <i>Dunaliella salina</i> | Рекомбінантні білки HBsAg і VP, α -галактозидаза і фітаза | 26, 37, 88 |
| | Пігменти: бета-каротин, лютеїн, зеаксантин | 60 |
| <i>Isochrysis galbana</i> , <i>Nitzschia laevis</i> , <i>Porphyridium cruentum</i> , <i>Phaeodactylum tricornerutum</i> | Поліненасичені жирні кислоти, зокрема, ейкозапентаєнова кислота | 60 |
| <i>Cryptocodinium cohnii</i> , <i>Ulkania sp.</i> , <i>Schizochytrium limacinum</i> | Докозагексаєнова кислота | 60 |
| <i>Haslea ostrearia</i> | Пігмент маренін | 60 |
| <i>Eicenia bicyclis</i> , <i>Hijikia fusiformis</i> | Пігменти фукоксантин | 60 |
| <i>Rhodophyta</i> | Полісахариди — альгінати, целюлоза, карагенан | 60 |
| Бактерії, ціанобактерії | | |
| Рекомбінантна <i>E. coli</i> | Інсулін | 1, 64, 72 |
| | Рекомбінантний одноланцюговий фрагмент змінної області антитіла (scFv) | 21 |
| | Білок та інтерферон- α 2b | 61 |
| | Рекомбінантні терапевтичні білки | 60 |
| <i>Lactococcus lactis</i> | Внутрішньоклітинні структури | 25 |
| <i>Arthrospira</i> (Спіруліна) | Фікоціанін і фенольні сполуки | 41 |
| | Ліпіди | 42 |
| | Октадекатрієнова кислота (γ -ліноленова кислота, GLA) | 60 |
| | Фікоціанін | |
| <i>Alcaligenes latus</i> | Полігідроксидобутірат і полігідроксиалканоат | 77 |
| | Амінокислоти | 12 |
| <i>Bacillus sp.</i> | Полімер полігідроксиалканоат | 14 |
| Ціанобактерії | Мікроколіни А і В | 60 |

Після руйнування клітинної стінки механічним способом, наступним етапом є розподіл суміші рідкої та твердої фаз, оскільки цільові продукти можуть міститися в різних компонентах клітини, наприклад, бета-глюкан [7, 8] та фермент інвертаза [83] акумулюються в стінках клітин одноклітинної водорості *Porphyridium cruentum* [50]; рекомбінантні білки HBsAg і VP 28 знаходяться в ядрі, а ферменти α -галактозидаза та фітаза [37] містяться в хлоропласті одноклітинної водорості *Dunaliella salina*; інсулін концентрується в тільцях включень у клітинах бактерій *Escherichia coli* [1, 64, 72], водночас велика кількість інших цінних речовин перебувають у рідкій фазі.

Клітини дріжджів є джерелом ферментів, білків, вуглеводів для синтезу біопалива, протеїнів, полісахаридів, зокрема, бета-глюкану. Одноклітинні водорості є цінними природними джерелами біоактивних сполук — вітамінів, незамінних амінокислот, поліненасичених жирних кислот, мінералів, каротиноїдів, ферментів та клітковини. Нині мікроводорості стають одними із інноваційних джерел нових функціо-

нальних харчових продуктів [46]. Бактерії *Alcaligenes latus* продукують полігідроксидбутират (PHB) та полігідроксиалканоат (PHA) — компоненти біорозкладного пластику [75].

Звертається увага на перспективи розвитку фармацевтичної біотехнології, що базується на використанні мікроорганізмів і технології рекомбінантної ДНК для виробництва лікарських засобів [60]. Генетично-змінені одноклітинні водорості є потенційним джерелом біологічних сполук для фармацевтичної галузі — антибіотиків, субодиничних вакцин, моноклональних антитіл, гепатотоксичних та нейротоксичних сполук, гормонів, ферментів тощо [37, 65]. Пігменти одноклітинних водоростей використовуються у препаратах для лікування та профілактики ряду хвороб [36, 37].

Деякі одноклітинні водорості, наприклад, *Nannochloropsis oculata*, під впливом ультрафіолетових променів накопичують вітаміни групи В, D₃ і К₂ і вважаються їх веганським натуральним джерелом [44, 50].

Генетично-змінені одноклітинні водорості, дріжджі та бактерії продукують рекомбінантні білки. Наприклад, *E. coli* продукує рекомбінантні білки артемізинін, паклітаксел (таксол), елеутеробін, еритроміцин, епотилон С і D, хумулін, протропін, роферон А, інтерферони, тазонермін, гуматроп та багато інших [60]. Широко використовуються у фармацевтичній біотехнології водорості *Chlamydomonas reinhardtii* [60], *Dunaliella salina* [26, 37, 88].

Безліч цінних біологічно-активних сполук отримується із бактерій. Найбільшого застосування, зокрема у фармацевтичній галузі, знайшла *E. coli*, а важливим продуктом нею продуктом є рекомбінантний людський інсулін [64].

Способи та режими руйнування клітин мікроорганізмів. У промислових масштабах клітини мікроорганізмів руйнуються в основному на бісерних млинах і гомогенізацією під високим тиском. Набуває поширення руйнування клітин мікроорганізмів під дією ультразвуку, проте цей метод потребує значних питомих енерговитрат, і поки що є низькопродуктивним, використовується в основному в лабораторних випробуваннях [48, 91].

Розглянемо основні способи та режими руйнування клітин різних мікроорганізмів у бісерних млинах, паралельно наводячи приклади застосування гомогенізації під високим тиском (табл. 2). Звернемо увагу, що для руйнування деяких мікроорганізмів використовуються обидва методи.

Таблиця 2. Способи та режими руйнування клітин мікроорганізмів

| Мікроорганізм | Обладнання і режими руйнування | Джерело |
|--|--|---------|
| Міцеліальні гриби та дріжджі | | |
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | бісерний млин: n — 2000—6000 об/хв; d — 0,38—0,88 мм; τ — до 3 хв | 49 |
| | горизонтальний бісерний млин: V — 1 л; D — 80 мм; d — 1 мм; n — 2400 об/с | 31 |
| | бісерний млин конусного типу (CoBall-Mill): V — 0,51 л; n — 1250, 1900, 2550 об/хв; C — до 70% (об/об); τ — 70 с | 88 |
| | бісерний млин горизонтальний і вертикальний: d — 0,5—1,25 мм; C — 80—85% | 27 |
| <i>Kluyveromyces marxianus</i> | бісерний млин: d — 0,5—1,25 мм | 27 |
| <i>Saccharomyces carlsbergensis</i> <i>S. uvarum</i> | центрифуга лабораторна, заповнена бісером | 8 |

Продовження таблиці 2

| | | |
|--|--|--------|
| <i>Aspergillus flavus</i> | бісерний млин (Omni® Bead Ruptor 12 Homogenizer): w — 2,1—6 м/с; τ — 6 циклів по 20 с; матеріал бісеру — скло; d — 0,5 мм | 38 |
| <i>Mortierella isabellina</i> | бісерний млин: d — 0,4 мм; n — 2800 об/хв; C_s — 25 г/л; τ — 5 хв | 87 |
| Одноклітинні водорості | | |
| <i>Chlorella vulgaris</i> | бісерний млин (DYNO®-MILL Model MULTI LAB RL): матеріал бісеру — Yttria-стабілізований цирконій d — 0,4—0,6 мм; V — 0,6 л; n — 2000 об/хв; C_s — 6% (w/w); швидкість рециркуляції суспензії — 1,5 л/хв | 30 |
| | бісерний млин: w — 10 м/с; d — 0,4 мм; C — 80% (об/об); витрата суспензії — 200 мл/хв; C_s — 30—90 г/л | 43 |
| | бісерний млин: матеріал бісеру — скло; d — 0,3—1,7 мм; C — 80—90% | 62 |
| | бісерний млин: матеріал бісеру — скло; d — 0,4—0,6 мм; n — 1500 об/хв; τ — 20 хв | 62, 91 |
| | бісерний млин: d — 0,4 мм; n — 2039 об/хв; C_s — 25 г/л; τ — 10 хв | 2, 62 |
| | бісерний млин: d — 0,1 мм; n — 2800 об/хв; C_s — 0,5 г/л; τ — 5 хв | 42, 62 |
| | бісерний млин: d — 1,0—1,6 мм; n — 2500 об/хв; τ — 1—30 хв | 62, 68 |
| | бісерний млин: C_s — 25—145 г/кг; w — 6—12 м/с; τ — 3 хв | 55, 62 |
| | гомогенізатор високого тиску (НРН): P — 150 МПа; k — 1—10 <i>примітка:</i> при великій кількості проходів процес сповільнюється через накопичення клітинних фрагментів | 71 |
| | гомогенізатор високого тиску (НРН): P — 100 МПа; k — 1—4; | 13 |
| | гомогенізатор високого тиску (НРН): P — 270 МПа; C_s — 2%; k — 2 | 69 |
| гомогенізатор високого тиску (УНРН): (ультра високоефективна гомогенізація); P — 250 МПа; k — 1—4 | 13 | |
| <i>Chlorella sorokiniana</i> (Trebouxiophyceae) | бісерний млин: n — 2800 об/хв; C_s — 25 г/л; τ — 5 хв | 87 |
| <i>Scenedesmus</i> sp. (Chlorophyceae) | бісерний млин: d — 0,1 мм; n — 2800 об/хв; C_s — 0,5 г/л; τ — 5 хв | 42, 62 |
| <i>Botryococcus</i> sp. (Trebouxiophyceae) | бісерний млин: d — 0,1 мм; n — 2800 об/хв; C_s — 0,5 г/л; τ — 5 хв | 42, 62 |
| <i>Phaeodactylum tricoratum</i> (Bacillariophyceae) | бісерний млин: n — 2000 об/хв; τ — 10 хв; C_s — 100 мг/л | 62, 67 |
| <i>Tetradesmus dimorphus</i> (Chlorophyceae) | бісерний млин: матеріал бісеру — боросилікат; d — 0,1 мм; C_s — 40 г/л; τ — 5 хв | 42, 62 |
| <i>Tetraselmis suecica</i> | бісерний млин: d — 0,4 мм; n — 2040 об/хв; C_s — 100 г/л; τ — 30 хв | 62, 76 |

Продовження таблиці 2

| | | |
|---|--|--------|
| <i>Neochloris oleoabundans</i> | гомогенізатор високого тиску: P — 30—150 МПа; k — 1 | 70 |
| <i>Porphyridium cruentum</i> | гомогенізатор високого тиску: P — 40 МПа; V — 10 мл; Dn — 180 мкм | 50 |
| <i>Nannochloropsis oceanica</i> , <i>Tetraselmis suecica</i> | бісерний млин: матеріал бісеру — цирконій; d — 0,4 мм; w — 10 м/с; Cs — 10 г/кг | 62, 67 |
| <i>Nannochloropsis oculata</i> | гомогенізатор високого тиску: P — 140 МПа; V — 10 мл; Dn — 180 мкм | 50 |
| Бактерії та ціанобактерії | | |
| <i>Alcaligenes latus</i> | бісерний млин | 77 |
| <i>Arthrospira</i> | бісерний млин або кульовий млин | 41 |
| | бісерний млин | 54 |
| <i>Bacillus</i> sp. | бісерний млин: d — 0,5 мм | 14 |
| <i>E. coli</i> | гомогенізатор високого тиску: руйнують як заморожені ($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$), так і незаморожені клітини; P — 150 МПа; k — до 1—5 | 21 |
| | бісерний млин: d — 0,5 мм | 61 |
| <i>Lactococcus lactis</i> | гомогенізатор високого тиску: P — 200 МПа; k — 1—10; в'язкість рідини — 2,5—7,9 МПа·с; Dn — 80 мкм | 25 |

Примітка: n — частота обертання ротора; d — діаметр бісеру; C — концентрація бісеру; Cs — концентрація сухої клітинної маси; τ — тривалість оброблення; w — колова швидкість ротора; V — об'єм робочої камери; D — діаметр робочої камери; Dn — діаметр сопла; k — кількість проходів суспензії.

Узагальнено дані табл. 2 про методи та режими руйнування клітин мікроорганізмів механічним способом:

а) більшість літературних джерел вказує, що для руйнування клітин грибків, зокрема дріжджів, доцільно використовувати оброблення їхніх суспензій у бісерних млинах;

б) для руйнування одноклітинних водоростей використовують як бісерні млини, так і гомогенізатори високого тиску;

в) для руйнування клітин бактерій використовують гомогенізатори високого тиску.

Лише в одному із джерел наводиться приклад руйнування бактерій *E. coli* у бісерному млині при діаметрі бісеру 0,5 мм [61], проте інші дослідники не повідомляють про таку можливість.

Під час оброблення суспензій мікроорганізмів у бісерних млинах діаметр бісеру, зазвичай, складає 0,1—1,5 мм, найчастіше — 0,4—0,6 мм. Використання менших і більших діаметрів бісеру можливе, проте ускладнене на звичайних бісерних млинах з пальцевими і дисковими робочими органами [97]. Для лабораторних досліджень використовується як скляний бісер, так і керамічний або металевий. У промислових масштабах, зазвичай, використовують металевий або керамічний бісер. Металевий бісер дає змогу проводити процес з більшою продуктивністю, проте має високу вартість, яка може складати понад 100 євро за кілограм, а вартість скляного бісеру починається від 10 євро за кілограм.

*Машинно-апаратні схеми виробництва біотехнологічних продуктів із використанням механічних способів руйнування клітин. Узагальнена машинно-апаратна схема виробництва і перероблення одноклітинних водоростей. У промислових масштабах найчастіше переробляються одноклітинні зелені водорості, такі як *Chlorella**

sp., *Nannochloropsis* sp., ціанобактерії *Arthrospira* (спіруліна) [36] (див. табл. 1). Передбачаються такі процеси та використання технологічного обладнання (рис. 1) [11, 66]:

- культивування водоростей. Зазвичай процес відбувається у фотобіореакторі 1 або штучних водоймах;
- збирання і концентрування клітинної біомаси у відстійниках 7, флокуляторах, центрифугах або сепараторах 6;
- руйнування клітин у бісерних млинах 9 або гомогенізаторах високого тиску 8;
- розділення твердої та рідкої фаз зруйнованої клітини у центрифугах або сепараторах 11;
- виділення цільових компонентів із суспензії зруйнованих клітин мікрowodоростей у екстракторах 13, апаратах для мембранного розділення 12 тощо, та їх очищення;
- використання компонентів клітин у виробництві харчових добавок [17, 20], косметики [66], кормів для тварин [84], компонентів косметичних і лікарських засобів [37], біопалива [28] тощо.

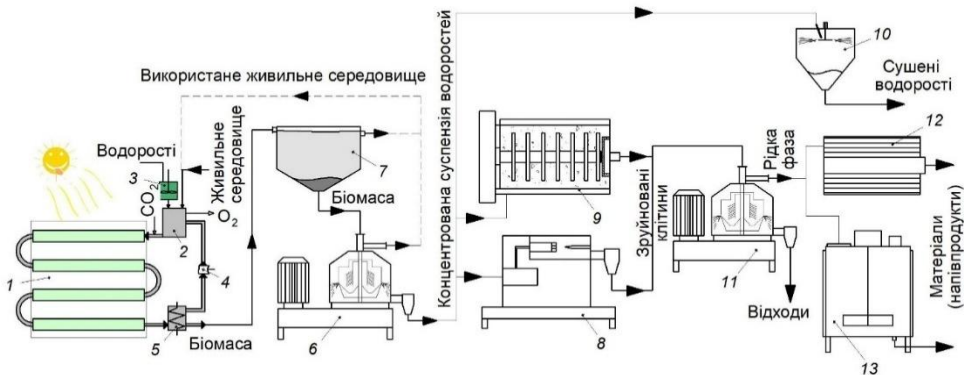


Рис. 1. Узагальнена машинно-апаратна схема [66, 97] виробництва і перероблення одноклітинних водоростей із застосуванням руйнування їх клітин: 1 — фотобіореактор; 2 — живильник; 3 — інокулятор; 4 — насос; 5 — фільтр-охолоджувач; 6, 11 — сепаратори соплові; 7 — відстійник; 8 — гомогенізатор високого тиску; 9 — бісерний млин; 10 — розпилювальна сушарка; 12 — мембранний фільтр; 13 — екстрактор

Отримання більшості продуктів із мікрowodоростей, за винятком харчових добавок, потребує операцій їх механічного руйнування у бісерних млинах або на гомогенізаторах під високим тиском. Гомогенізатори високого тиску не використовуються для руйнування клітин водоростей, які утворюють ниткоподібні структури.

Машинно-апаратна схема виробництва бета-глюкану із використаних пивних дріжджів. Пивні дріжджі продукують бета-глюкан у складі клітинних стінок [6]. Перед екстрагуванням бета-глюкану клітинні стінки потрібно відділити від рідкої фракції. Тривалість руйнування клітин дріжджів хімічними методами може становити до 36 годин. Проте руйнування клітин механічним способом із використанням бісерного млина [7] відбувається інтенсивно, за декілька хвилин.

Схема (рис. 2) передбачає вилучення крупних домішок із клітинної біомаси на просіювачі 2, видалення гірких сполук у реакторі 3, концентрування клітин у центрифугі 4, попередній автолізис клітин у реакторі 5, руйнування клітин у бісерному млині 6, відділення рідкої фази від стінок на центрифугі або сопловому сепараторі 7, екстрагування бета-глюкану із стінок клітин у екстракторі 8, відділення твердої фази від екстракту на центрифугі або сепараторі 9, концентрування бета-глюкану шляхом діалізу на мембранних фільтрах 10 та його сушіння у розпилювальній сушарці 11.

Якщо проводити процес у напівпромислових масштабах, то використання однієї центрифуги є достатнім на етапах промивання дріжджової суспензії, відділення твердої і рідкої фази клітин, відділення клітинних залишків від екстракту. Для високопродуктивного безперервного виробництва на кожному етапі доцільно використати сепаратори соплового типу.

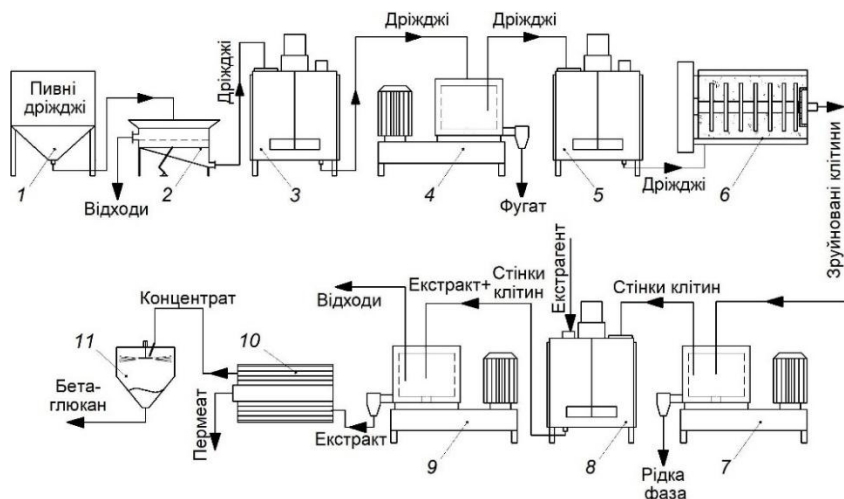


Рис. 2. Машинно-апаратурна схема виробництва бета-глюкану із використаних пивних дріжджів [6, 97]: 1 — ємність із дріжджами; 2 — фільтр; 3 — реактор з мішалкою; 4 — сопловий сепаратор для суспензій; 5 — реактор для автолізу клітин; 6 — бісерний млин; 7 — центрифуга або сопловий сепаратор; 8 — екстрактор; 9 — центрифуга або сопловий сепаратор; 10 — мембранний фільтр; 11 — сушильний апарат розпилювального типу

Руйнування клітин відбувається у бісерному млині. Рекомендований розмір бісеру — 0,5 мм. Оптимальними параметрами для руйнування клітин є концентрація клітинної суспензії 5%, співвідношення дріжджова суспензія/бісер 1:2 об/об, кількість циклів оброблення у бісерному млині — 3. За таких параметрів ефективність руйнування складає 99,8% [6].

Машинно-апаратурна схема виробництва рекомбінантного людського інсуліну із тілець включень *E. Coli*. Інсулін накопичується в тільцях включень генетично-модифікованих штамів бактерії *E. coli*. Схема виробництва передбачає руйнування бактерій *E. coli* у гомогенізаторах під високим тиском, відділення тілець включень та вилучення з них інсуліну [72] (рис. 3).

Культура бактерій *E. coli* вирощується у ферментаторі 1 і концентрується у сопловому сепараторі 2. Клітини *E. coli* руйнують у гомогенізаторі 3 під тиском 300 МПа продуктивністю 150 мл/хв (звернемо увагу на брак даних відкритого доступу про спосіб і режими руйнування клітин). Відділення рідини та клітинного сміття відбувається у сепараторі 4. Двоетапне відділення і промивання отриманої твердої фази з метою вилучення тілець включень відбувається в сепараторах 5 і 6. Тільця включень оброблюються в реакторі 7 з метою згортання білків та у реакторі 8 для осадження чужорідних білків. Відділення твердих відходів відбувається у сепараторі 9, кристалізація інсуліну — у кристалізаторі 10, відділення вологи із кристалів — на центрифугі 11. Сушіння інсуліну відбувається в сублимаційному сушильному апараті 12.

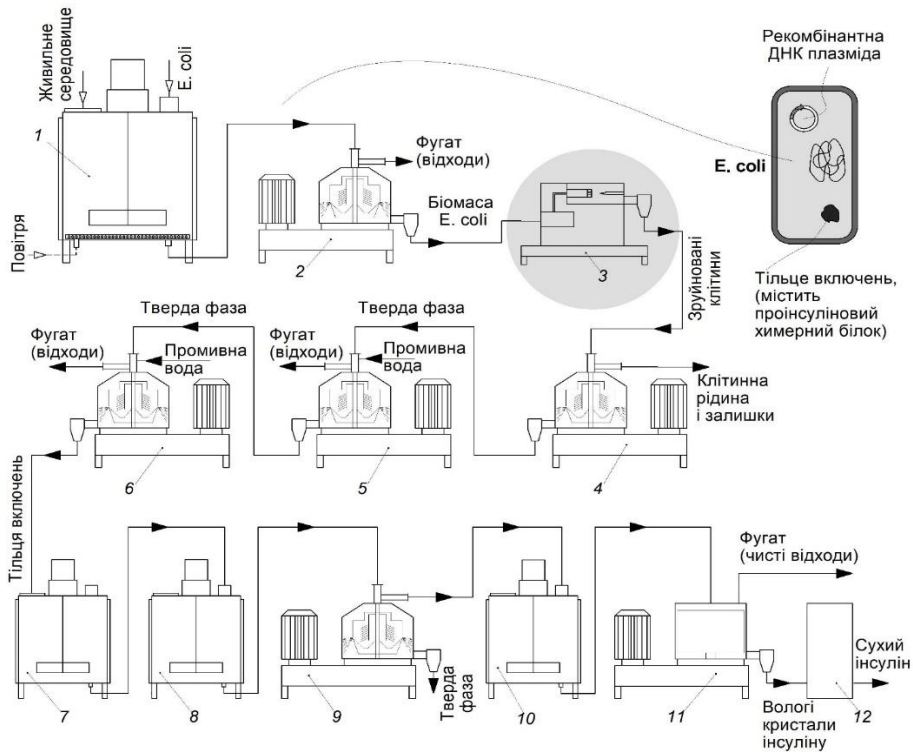


Рис. 3. Машинно-апаратна схема виробництва рекombінантного людського інсуліну із тільця включень *E. coli* (сірим виділено етап руйнування клітин *E. coli*): 1 — ферментатор; 2 — сопловий сепаратор; 3 — гомогенізатор високого тиску; 4, 5, 6, 9 — соплові сепаратори; 7, 8 — реактори; 10 — кристалізатор; 11 — центрифуга; 12 — сублімаційний сушильний апарат

Незважаючи на ефективність та широке застосування механічних методів руйнування клітин, вони можуть погіршити якість білка в тільцях включення більше, ніж методи на основі лізоциму [74].

Компанія Eli Lilly також використовує спосіб виробництва інсуліну з клітин дріжджів, який не передбачає їх механічного руйнування [1].

Конструкції бісерних млинів. У бісерних млинах руйнування клітин мікроорганізмів відбувається між твердими частинками — бісером, в основному за рахунок напружень зсуву і стискання [32]. Під руйнуванням клітин розуміємо розрив клітинних стінок і мембран. Подальший процес оброблення, коли клітинні стінки і мембрани розділяються на менші елементи, доцільно називати подрібненням, проте воно не є раціональним і призводить до зайвих витрат енергії.

Зазвичай, млин має нерухому робочу камеру (також використовуються назви «Стакан» і «Барабан») циліндричної форми, у якій робочі тіла — бісер, отримують рух від ротора. У цьому разі робочі тіла — бісеринки, розглядаються як частина машини. Бісер, зазвичай, буває металевим, керамічним або скляним [95]. Скляний бісер використовується в лабораторних бісерних млинах або млинах невеликого об'єму. Ротор бісерного млина — це вал з робочими органами, зазвичай, пальцеподібної або дископодібної форми. Частота обертання ротора у більшості випадків складає від 500 до 3000 об/хв.

Основна задача ротора — надати рух всьому об'єму бісеру. Слід зауважити, що бісер у стакані млина здійснює складний рух [15]. Отримуючи рух під час контакту з

робочими органами — пальцями або дисками, бісер під дією відцентрової сили відкидається до стінок млина. У зоні контакту з робочими органами швидкість руху бісеру більша, і він інтенсивніше рухається до стінок. У проміжках між робочими органами, із віддаленням від їх поверхні, швидкість бісеринок знижується, і бісер у цій зоні циркулює до осі обертання ротора.

За рахунок циркуляції бісерної маси та нерівномірного тиску у її об'ємі частота і напрям обертання бісеринок є різними, тому на клітини, які знаходяться між бісеринками, діють зусилля зсуву, які у поєднанні із стисканням розривають їх стінки.

У деяких дослідженнях, презентаціях виробників обладнання висувається гіпотеза про ударні навантаження під час оброблення клітин у бісерних млинах [24]. Удар, зазвичай, розглядається як взаємодія двох тіл, яка відбувається зі значними силами (прискоренням) впродовж короткого проміжку часу [93]. Проте у бісерному млині не виникає умов для значної різниці швидкостей, і відповідно, прискорень між частинками, тому автори статті не розглядають удар як значущу рушійну силу руйнування клітин між бісеринками.

Діаметр бісеру для руйнування клітин зазвичай складає від 0,4 до 1,5 мм (див. табл. 2), проте в інших сферах застосування, наприклад, у спеціальних конструкціях бісерних млинів для отримання наночастинок використовують бісер діаметром менше 0,01 мм, а у виробництві фарбувальних матеріалів розміри бісеру може перевищувати 2 мм.

Виробники бісеру наголошують, що діаметр бісеру має бути у 10—20 разів більшим за розмір частинки, яка обробляється [95]. Проте це правило на завжди виконується, що видно із табл. 2.

Звернемо увагу на типову помилку проєктувальників обладнання та дослідників-початківців, які намагаються руйнувати клітини мікроорганізмів або подрібнювати різні тверді частинки в бісері малого діаметру. Зі зменшенням розміру бісеру понад певну межу, зазвичай це 0,3—0,4 мм, ефективність (продуктивність) процесу різко знижується [97]. Це пояснюється тим, що сипкість бісерної маси зі зменшенням діаметра бісеру знижується. Рух отримує лише невеликий об'єм бісеру, який контактує з робочими органами, а до віддалених шарів бісеру рух не передається. Про це явище не згадується в науковій літературі та рекламних матеріалах виробників бісерних млинів.

В окремих рекламних презентаціях виробників наводяться спеціальні конструкції бісерних млинів, зокрема з турбіноподібними робочими органами [18] або без виражених робочих органів, проте з інтенсивними різнонаправленим рухом ємкостей з бісером (флаконів невеликого об'єму). Зазвичай, не наводиться пояснення й обґрунтування таких конструкцій, проте очевидно, що вони інтенсифікують рух бісеру і його циркуляцію в стакані млина. Це дає змогу використати бісер малого діаметра — менше за 0,3—0,4 мм, що неможливо реалізувати в типових конструкціях млинів, і, відповідно, збільшити продуктивність процесу руйнування клітин або забезпечити подрібнення твердих частинок до нанорозмірів.

Іноді дослідники використовують для руйнування клітин мікроорганізмів звичайні флаконні лабораторні центрифуги або барабанні центрифуги періодичної дії, які наповнюються бісером [6, 7].

Звернемо увагу, мета оброблення клітин — це порушення їх цілісності з подальшим відділенням рідкого вмісту клітини від клітинних стінок, мембран, а також відділення тілець включень. У літературі не зазначається, що в бісерному млині під дією значних відцентрових сил вивільняється вміст клітини. Це помітно на прикладі того, що в полі зору мікроскопа не спостерігається зафарбованих (інактивованих) клітин

(або їх дуже мало). Спостерігаються або живі клітини на початку оброблення, або «пусті» клітини, їх клітиноподібні стінки та фрагменти [98]. Можна зробити припущення, що в бісерних млинах під дією відцентрових сил із клітин з порушеною стінкою миттєво вивільняється рідкий вміст. Подальше оброблення на центрифугах і сепараторах завершить повне відділення твердої і рідкої фаз.

Вибір орієнтації робочої камери бісерного млина. Висока частота обертання робочих органів, яка становить від 1000 до 3000 об/хв (табл. 2), робить бісерні млини подібні до центрифуг, оскільки відцентрова сила, яка діє на бісер, значно (у десятки і сотні разів) перевищує силу тяжіння. Тому вплив гравітації (сили тяжіння) на процес оброблення є мізерним порівняно з відцентровою складовою. Отже, немає принципової різниці у продуктивності оброблення у млинах із вертикальною і горизонтальною робочими камерами [18, 20, 25].

Однак з точки зору функціональності, працездатності та обслуговування існують певні переваги та недоліки (табл. 3).

Таблиця 3. Порівняння функціональності бісерних млинів [18]

| Тип робочої камери | Переваги | Недоліки |
|--------------------|--|--|
| Горизонтальна | Менша пускова потужність (бісер не навантажує робочі органи). Заміна деталей і ремонт вузлів простий | Більша виробнича площа. Більший час вивантаження залишків суспензії та бісеру |
| Вертикальна | Менша виробнича площа. Менший час вивантаження залишків суспензії та бісеру | Більша пускова потужність (бісеру навантажує робочі органи). Заміна деталей і ремонт вузлів складніший |

Бісерні млини із робочою камерою вертикального типу. Бісерні млини з робочою камерою вертикального типу, зазвичай періодичної дії, мають малий об'єм робочої камери (1—5 дм²) і застосовуються для виробництв низької продуктивності або у лабораторіях. Проте нині виробники пропонують конструктивні рішення високопродуктивних вертикальних млинів безперервної дії [81].

Розглянемо приклад лабораторного бісерного млина з робочою камерою вертикального типу, який є частиною експериментального стенду для дослідження процесів руйнування клітин мікроорганізмів та надтонкого подрібнення компонентів косметичних і фармацевтичних засобів [32]. У робочій камері бісерного млина (рис. 4) знаходиться вал 10 з робочими органами — дисками 11, частота обертання якого регулюється від 130 до 2700 об/хв за допомогою перетворювача частоти. У стакан 1 закидається бісер і оброблювальна суспензія. Стакан закривається кришкою 4, яка також тримає підшипниковий вузол 7 із валом 10. Хвостовик валу з'єднується з приводною муфтою, робоча камера фіксується на станині млина. Утворена теплота відводиться через охолоджувальну сорочку.

Недолік такого типу млинів — необхідність розбирання робочої камери, видалення її вмісту для відділення обробленої суспензії від бісеру і промивання бісеру. При цьому значна частина продукту залишається на поверхні бісеринок та втрачається під час його промивання.

Бісерні млини із робочою камерою горизонтального типу. Такі млини, зазвичай, працюють у безперервному режимі та оснащені пристроями для відділення суспензії від бісеру і зовнішніми контурами для циркуляції суспензії.

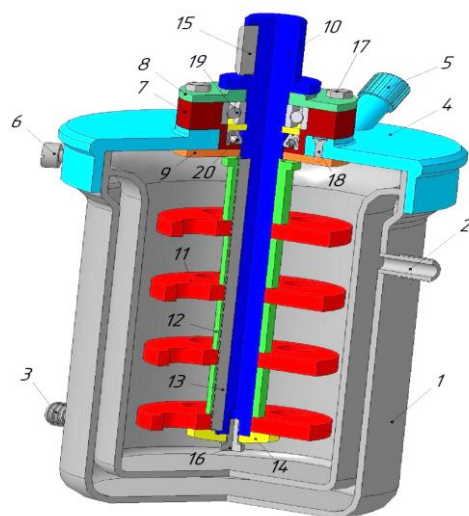


Рис. 4. Схема робочої камери лабораторного бісерного млина вертикального типу: 1 — стакан; 2, 3 — патрубки для охолоджувальної рідини; 4 — кришка; 5 — пробовідбірник; 6 — фіксатор кришки; 7 — підшипниковий вузол; 8 — кришка; 9 — шайба; 10 — вал; 11 — диск; 12 — втулка; 13 — шпонка; 14 — шайба; 15 — шпонка; 16, 17, 18 — гвинти; 19 — підшипник

На рис. 5 показані часто вживані конструкції бісерних млинів із робочою камерою горизонтального типу, з пальцевими (а) та дисковими (б) робочими органами [5].

Пальці або диски 3 кріпляться на валу (роторі) 2, який обертається з частотою 1000—2000 об/хв. Оброблювальна суспензія безперервно подається через патрубок S1 і відводиться через патрубок S2. Перед відведенням суспензія проходить пристрої для відділення бісеру — відцентровий 6 і патронний 7 сепаратори. У випадку з пальцевими робочими органами (рис. 5, а), відцентровий сепаратор виготовлений у вигляді вікон у роторі, а у випадку із дисковими робочими органами (рис. 5, б) — у вигляді окремого вузла 6. Охолоджувальна рідина безперервно подається і відводиться із охолоджувальної сорочки 8 через патрубки S3.

Перевагами таких конструкцій є можливість безперервного процесу оброблення, керування швидкістю подрібнення частинок суспензії або руйнування клітин мікроорганізмів, організація зовнішнього контуру оброблювальної суспензії та уникнення застійних зон. Процес миття бісеру та гігієнічного оброблення робочої камери не потребує розбирання млина; млин може бути підключений до СІР систем миття та стерилізації [6, 22].

Щодо вибору пальцевих або дискових робочих органів у науковців і виробників немає єдиної думки. У більшості випадків для руйнування клітин мікроорганізмів (див. табл. 2) використані дискові робочі органи. У презентаціях виробників теж переважають млини з дисковими робочими органами. Пальцеві робочі органи дають змогу незначно підвищити продуктивність оброблення [98], проте призводять до зниження довговічності бісеру, особливо скляного.

Види дискових робочих органів бісерних млинів. Завдання швидкообертового диска — за рахунок контакту із бісером надати інтенсивного руху всій масі бісеру та забезпечити його циркуляцію у робочій камері млина.

Диски з плоскою поверхнею (рис. 6, а) надають обертового руху прилеглим шарам бісеру, який під дією відцентрової сили відкидається до стінок робочої камери і далі знову витісняється потоком бісеру до осі робочої камери.

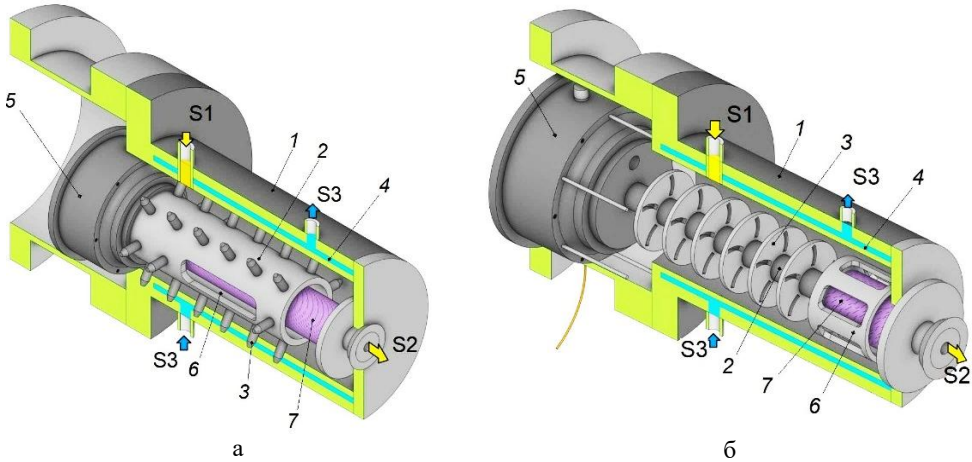


Рис. 5. Узагальнені конструкції бісерних млинів з робочою камерою горизонтального типу: а — з пальцевими робочими органами; б — з дисковими робочими органами; 1 — стакан; 2 — ротор; 3 — робочі органи (пальці або диски); 4 — охолоджувальна сорочка; 5 — підшипниковий вузол з ущільненнями; 6 — відцентровий сепаратор бісеру; 7 — патронний сепаратор бісеру; 8 — охолоджувальна сорочка. Патрубки: S1 — вводу суспензії; S2 — виходу суспензії; S3 — входу і виходу рідини в охолоджувальну сорочку

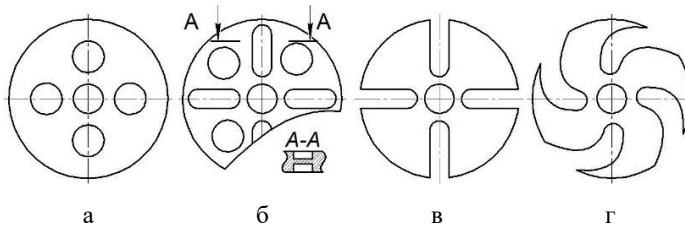


Рис. 6. Види дискових робочих органів дискових млинів: а — диск з плоскою поверхнею та отворами для руху суспензії; б — диск із глухими пазами (канавками); в — диск із прямими наскрізними канавками; г — диск із наскрізними канавками складної (спіралеподібної) форми

Більш складні конструкції дисків [5, 18, 22, 23] передбачають наявність пазів (канавок) глухих (рис. 6, б) або наскрізних (рис. 6, в), прямих (рис. 6, в) або складної форми, зазвичай спіральної (рис. 1, г), виконаних на певну довжину (рис. 6, б) або на всю довжину, до бічної поверхні (рис. 6, г). Такі конструкції забезпечують контакт бісеру з диском не лише на бічній поверхні, а й на всій поверхні канавок. Зчеплення бісеру з диском відбувається не лише за рахунок сил тертя, а й за рахунок притискання боковими поверхнями канавок, що надає бісеру додаткового імпульсу за рахунок відцентрової сили, забезпечує його інтенсивну циркуляцію в об'ємі робочої камери й обертання бісеринки з різною швидкістю. Відповідно, на частинки оброблюваної суспензії діють більші зусилля зсуву та стиснення.

Деякі виробники комбінують різні типи дискових робочих органів у одній робочій камері [23], зокрема диски із плоскою поверхнею і диски з наскрізними пазами складної спіралеподібної форми.

Бісерні млини з робочою камерою конусного типу. Бісерні млини з робочою камерою конусного типу з кільцевим зазором (також відомі як CoBall) рекомендуються

компанією-виробником ProXES GmbH для подрібнення компонентів фармацевтичних засобів. Для руйнування клітин мікроорганізмів млини такого типу рекомендуються фахівцями біотехнологічної галузі [80].

Продукт вводиться в камеру подрібнення за допомогою зовнішнього насоса. Руйнування клітин (або подрібнення частинок суспензії) здійснюється в просторі між статорно-конічною робочою камерою і конічним ротором [56] (рис. 7).

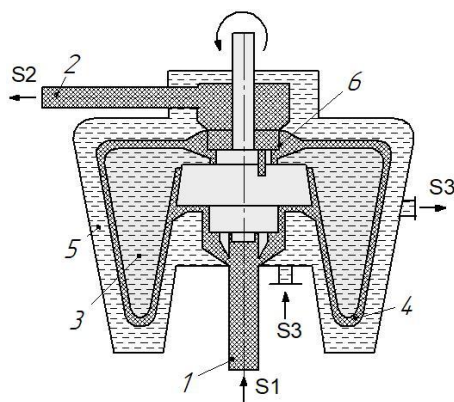


Рис. 7. Бісерний млин із робочою камерою конусного типу [56]: 1 — канал введення оброблювальної суспензії; 2 — канал відведення обробленої суспензії; 3 — конусний ротор з охолоджувальною сорочкою; 4 — зазор між ротором і статором; 5 — статор з охолоджувальною сорочкою; 6 — вузол відділення суспензії від бісеру і повернення бісеру у робочу камеру. Патрубки: S1 — входу суспензії; S2 — виходу обробленої суспензії; S3 — подачі і виходу води в охолоджувальну сорочку

Розмір зазору між ротором і статором — 6,5—17,0 мм. Рух ротора викликає радіальне переміщення бісеру. У міру просування бісерної маси з продуктом швидкість руху збільшується, ймовірно, за рахунок збільшення відцентрових сил внаслідок збільшення діаметра робочої камери. Відповідно, зростають напруження зсуву. Після проходження зазору суспензія відокремлюється від бісеру на ситі та відводиться, а бісер через канал повертається в робочу камеру.

Виробник звертає увагу, що на якість готового продукту впливають [56]:

- частота обертання ротора;
- зазор між ротором і статором у зоні руйнування (подрібнення);
- матеріал і діаметр бісеру;
- швидкість потоку;
- навантаження на бісер.

Можна припустити, що навантаження на бісер залежить від частоти обертання ротора і густини бісеру.

Наголошується, що такі млини надають продукту у 4 рази більше енергії, ніж млини звичайних конструкцій, тому під час оброблення виділяється значна кількість теплоти. З метою інтенсивного охолодження статор млина має водяну сорочку, а у пустагілий ротор також подається охолоджувальна рідина.

Переваги бісерних млинів з робочою камерою конусного типу [56]:

- якісний гранулометричний склад готового продукту;
- якісний контроль температури суспензії під час оброблення;
- ефективний для високов'язких продуктів;
- швидке переналагодження на інші продукти;

- очищення відбувається без видалення бісеру;
- економне використання мийних засобів і сумісність із системами СІР;
- відповідають умовам застосування у виробництві компонентів фармацевтичних засобів.

Бісерні млини з робочими органами турбінного типу. Звертається увага на використання такого типу млинів для делікатного оброблення наночастинок без значних пошкоджень кристалів [18], і, аналогічно, для руйнування клітини без пошкодження її цінних компонентів.

Робочий орган таких млинів (рис. 8, а) виконаний у вигляді турбінного колеса [18] і нагадує конструкцію відцентрового сепаратора бісеру (для порівняння, див. рис. 5 і 9). Інших робочих органів у робочій камері немає.

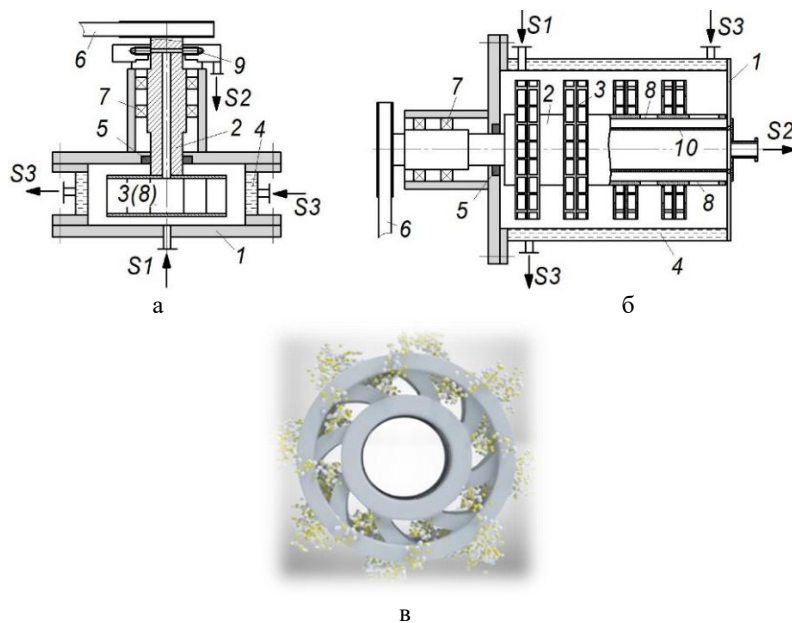


Рис. 8. Конструкції бісерних млинів із робочими органами турбінного типу: а — млин із одним турбінним колесом [18]; б — млин із набором турбінних коліс [Boye, 2025]; в — ілюстрація циркуляції бісеру у млині із турбінним робочим органом [15]; 1 — стакан; 2 — ротор; 3 — робочі органи (турбінні колеса); 4 — охолоджувальна сорочка; 5 — ущільнення; 6 — привід; 7 — підшипниковий вузол; 8 — відцентровий сепаратор; 9 — пристрій відведення суспензії; 10 — патронний сепаратор бісеру. Патрубки: S1 — вводу суспензії; S2 — виходу суспензії; S3 — входу і виходу рідини у охолоджувальну сорочку

Відомі млини з декількома робочими турбіноподібними органами [15] (рис. 8, б). Ефективність роботи таких млинів пояснюється тим, що суспензія мікроорганізмів або твердих частинок разом з бісером під дією відцентрової сили викидається з турбіни до стінок робочої камери, далі виштовхується до осі ротора і знову всмоктується в турбіну [15] (рис. 8, в). Отже, такий тип млинів надає достатнього руху бісеру малого діаметра. На типових конструкція млинів із робочими органами пальцевого і дискового типів такого ефекту досягти неможливо.

Особливість робочих органів турбінного типу полягає в тому, що вони виконують функції як перемішування, так і розділення бісеру. Розробники звертають увагу на оптимізацію конструкції сегментних пластин турбіни (сепаратора) вертикального ти-

пу шляхом низького співвідношення його висоти до діаметра. Ротор забезпечує високу роздільну здатність бісеру навіть за низької відцентрової сили. Низька відцентрова сила призводить до низької енергії удару бісеринок, і, наночастинки або компоненти клітини під час оброблення не пошкоджуються. Ротор із низьким співвідношенням висоти до діаметра забезпечує рівномірний потік суспензії, завдяки чому уникають локальних пошкоджень продукту [18].

Пристрої для відділення суспензії від бісеру. Інноваційні бісерні млини безперервної дії передбачають наявність пристрою для відділення суспензії від бісеру. За відсутності сепаратора бісеру неможливо організувати безперервне оброблення суспензії, робочу камеру бісерного млина потрібно розбирати та відділяти суспензію від бісеру на ситі [33]. За такої умови значна кількість суспензії залишається на поверхні бісеру і втрачається під час його миття.

Найпростішим сепаратором бісеру є щілинний: зазвичай, між патрубком відведення суспензії і пластиною за допомогою гвинтового механізму встановлюється зазор, через який проходять частинки суспензії з рідиною і не проходить бісер. Нині виробники обладнання рідко пропонують такі конструкції. Проте відомий механізм, який виявляє зміну внутрішнього тиску, що пов'язана з опором потоку суспензії в щілинному зазорі, і автоматично регулює щілинний зазор [18]. Цей механізм запобігає засміченню щілини, що забезпечує тривалу стабільну роботу. Водночас щілинні сепаратори фіксованого типу можуть бути закупорені грубими частинками або бісером. Щілинні сепаратори в основному застосовується при подрібненні частинок від субмікрон до десятків мікрометрів із застосуванням бісеру розміром від 0,5 до 3 мм. Такий тип сепаратора розділяє суспензій в'язкістю до 10 000 МПа·с.

Сепаратор (фільтр) патронного типу (див. рис. 5, а, б, поз. 7; рис. 9, в, поз. 10) виконується з пористого матеріалу, сита або намотуванням на перфоровану трубку тонкого дроту. Зазвичай, використовується для бісеру розміром понад 0,1 мм [18]. Такі конструктивні рішення не є ефективними у разі значної концентрації бісеру у зоні розділення.

Відцентровий сепаратор бісеру (рис. 9) є ефективнішим порівняно із щілинним або патронним. Дає змогу відділяти від суспензії найдрібніші види бісеру, до 15 мкм [18].

Сепаратор виготовляється у вигляді турбінного колеса, насадженого на пустотілий ротор бісерного млина (див. рис. 5, а, б, поз. 6; рис. 9, а, б, с, поз. 8). На зовнішній циліндричній поверхні колеса вирізані вікна, у які потрапляє суспензія з подрібненим продуктом або зруйнованими мікроорганізмами, і відводиться через пустотілий ротор.

Швидкість осадження частинок у гравітаційному і відцентровому полях залежить від розміру — менші частинки осідають повільніше. Діаметр бісеринок — 0,3—2,0 мм, а частинок суспензії — менше за 0,05 мм, тому бісер під дією відцентрових сил рухається до стінок бісерного млина зі швидкістю значно більшою, ніж частинки [96].

Умова роботи відцентрового сепаратора: витрату суспензії потрібно підібрати так, щоб швидкість її руху вглиб сепаратора була більшою за швидкість руху частинок назовні під дією відцентрових сил. Бісер під дією відцентрових сил рухається назовні швидше за частинки суспензії і викидається із сепаратора, а частинки разом з рідиною відводяться через пустотілий ротор. Конструкція, у якій сепаратор отримує рух від окремого приводу, є раціональнішою, тому що дає змогу налаштувати оптимальні режими подрібнення і відділення бісеру [39].

Отже, відцентровий сепаратор бісерного млина дає змогу якісно розділити суспензію від бісеру за умови раціонального вибору швидкості обертання.

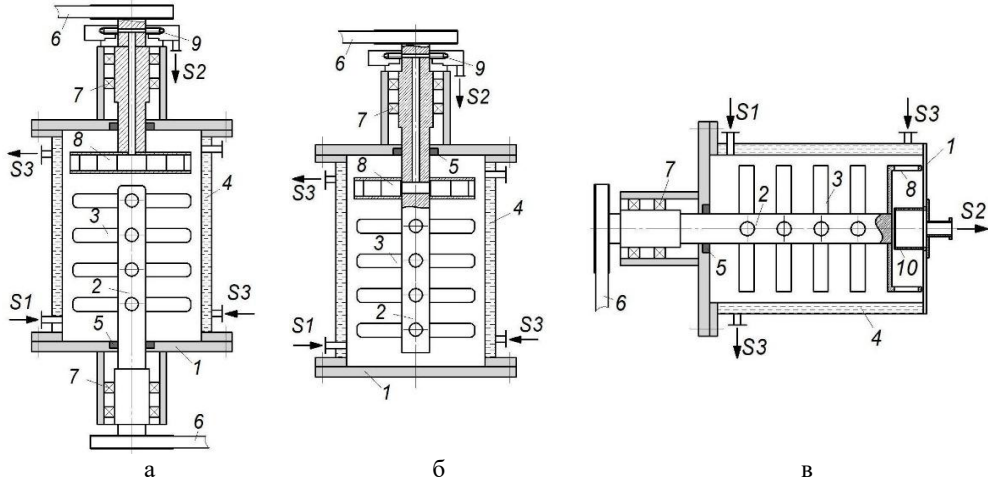


Рис. 9. Конструкції робочих камер бісерних млинів [18]: а — вертикальний бісерний млин із спільним приводом ротора і відцентрового сепаратора; б — вертикальний бісерний млин із окремим приводом відцентрового сепаратора; в — горизонтальний бісерний млин із відцентровим та патронним сепараторами; 1 — стакан; 2 — ротор; 3 — робочі органи; 4 — охолоджувальна сорочка; 5 — ущільнення; 6 — привід; 7 — підшипниковий вузол; 8 — відцентровий сепаратор; 9 — пристрій відведення суспензії; 10 — патронний сепаратор бісеру. Патрубки: S1 — вводу суспензії; S2 — виходу суспензії; S3 — входу і виходу рідини у охолоджувальну сорочку

Бісерні млини із зовнішнім контуром циркуляції суспензії. Деякі виробники виділяють окрему класифікацію бісерних млинів за структурою робочого циклу — періодичної дії, безперервної дії прохідні і безперервної дії циркуляційні. Більшість промислових бісерних млинів безперервної дії є циркуляційними і оснащені системами зовнішніх контурів для циркуляції суспензії [5, 18, 22, 92]. Узагальнена схема бісерного млина із зовнішнім контуром суспензії показана на рис. 10.

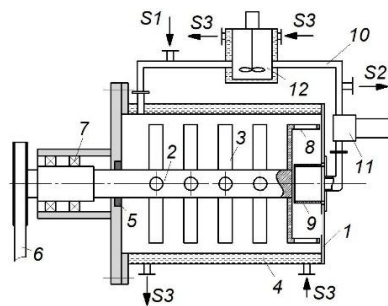


Рис. 10. Бісерний млин, оснащений зовнішнім контуром циркуляції суспензії: 1 — стакан; 2 — ротор; 3 — робочі органи; 4 — охолоджувальна сорочка; 5 — ущільнення; 6 — привід; 7 — підшипниковий вузол; 8 — відцентровий сепаратор; 9 — патронний сепаратор; 10 — зовнішній контур циркуляції суспензії; 12 — охолоджувальна камера для суспензії. Патрубки: S1 — вводу суспензії; S2 — виходу суспензії; S3 — входу і виходу рідини у охолоджувальну сорочку

Суспензія після відділення від бісеру подається насосом 11 у зовнішній контур 10 циркуляції і знову повертається у бісерний млин. У разі організації безперервної структури робочого циклу незначна частина суспензії відводиться із контуру, а інша — повертається назад у млин. У деяких випадках у зовнішньому контурі передбачена проміжна камера 12 для охолодження суспензії. Більшість виробників наводять її лише на схемах оброблення суспензії твердих частинок і не передбачають її застосування для охолодження суспензії мікроорганізмів.

Хоча кількість циклів циркуляції суспензії не наводиться, на основі аналізу (див. табл. 2) і згадок у презентаціях виробників можна узагальнити, що вона не перевищує 10 і, зазвичай, складає 3—5.

Системи циркуляції суспензії зовнішнім контуром встановлюються частіше на бісерних млинах із горизонтальною робочою камерою, але іноді їх встановлюють і на млинах з вертикальною камерою [92].

Види робочих тіл бісерних млинів. Робочі тіла бісерних млинів — бісер, тобто кульки невеликого діаметра. Зазвичай, діаметр бісеру для руйнування клітин мікроорганізмів — від 0,1 до 2,0 мм, проте може сягати менше за 0,03 мм для отримання наночастинок, та понад 3,0 мм — у хімічному виробництві (найчастіше — під час виготовлення фарб). Бісер виготовляють зі скла [51, 53, 73], кераміки [51, 53, 73] або сталі [51].

Скляний бісер часто використовують у лабораторних млинах та в невеликих виробництвах. Зазвичай, використовують скло:

- боросилікатне;
- натрієво-вапняне;
- алюміній-борсилікатне;
- кварцове (синтетичний діоксид кремнію).

Керамічний бісер більш поширений за скляний. Приклади матеріалу керамічного бісеру:

- оксид цирконію;
- суміш карбиду вольфраму і оксиду цирконію;
- оксид церію;
- цирконій-алюміній-оксид;
- спечений силікат цирконію;
- оксид алюмінію;
- діоксид кремнію.

Для покращення характеристик керамічні суміші додатково стабілізують ітрієм або церієм.

Сталевий бісер виготовляють з підшипникової та хромованої сталі.

Керамічний бісер з оксиду цирконію, стабілізованого ітрієм, доречно використовувати для роботи з компонентами лікарських засобів і руйнування клітинної стінки мікроорганізмів [53, 73], а бісер з підшипникової сталі рекомендований для роботи з харчовими продуктами [18].

Існують певні правила підбору виду та роду бісеру [51]:

- для продуктів, що легко подрібнюються, використовуються робочі тіла меншого розміру;
- для продуктів, які важко подрібнюються, доречно обрати робочі тіла більшого розміру;
- робочі тіла повинні бути в 2—3 рази більшими, ніж зазор (пори) сепаратора або фільтра у млині (наприклад, щілинне сито, ситовий патрон);

- робочі тіла мають бути принаймні в 5 разів меншими за відстань між краєм робочого органу (диска або пальця) та стінкою робочої камери;
- розмір робочих тіл повинен бути приблизно у 20—30 разів більший за початковий розмір частинок (d_{95}) подрібнюваного продукту;
- цільовий середній розмір частинок (d_{50}) продукту після подрібнення становить приблизно 1/1 000 розміру робочого тіла, наприклад [51, 73]:

$$\text{розмір робочого тіла } 2 \text{ мм} \rightarrow d_{50} = 0,002 \text{ мм} = 2,0 \text{ мкм.}$$

Спостерігається тенденція до використання робочих тіл набагато менших розмірів (<100 мкм) для нанонізації компонентів лікарських засобів [45].

Інші приклади використання бісерного оброблення клітин. Компанія «BioSpec Products» (США) виробляє лабораторні пристрої, які руйнують клітини мікроорганізмів всередині мікрофлаконтів об'ємом 2,0 мл. Пристрій підключається до резервуара з рідким азотом для охолодження суспензії до -196 °С, у результаті чого суспензія стає порошкоподібною, а не рідкою [80].

Узагальнення і систематизація структури бісерних млинів. У науковій і навчальній літературі недостатньо систематизованої інформації про конструкції бісерних млинів. На основі цього огляду пропонується систематизувати бісерні млини за структурою, типом робочої камери, типом робочих органів і сепараторів бісеру. Інформація буде корисною для підготовки навчальної та довідкової літератури.

Узагальнена структура бісерного млина показана на рис. 11.

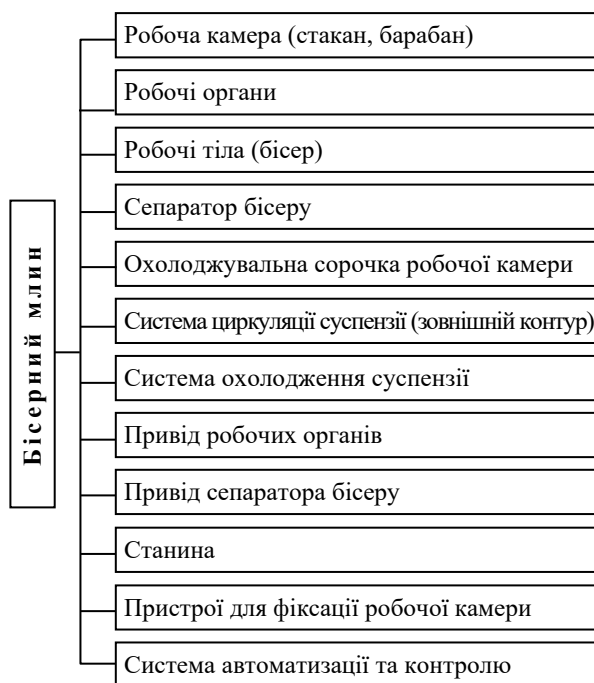


Рис. 11. Структура бісерного млина

Класифікацію бісерних млинів за типом робочої камери показано на рис. 12, за типом робочих органів — на рис. 13, за типом сепаратора бісеру — на рис. 14; типи дискових робочих органів наведені на рис. 15.



Рис. 12. Типи робочих камер бісерних млинів

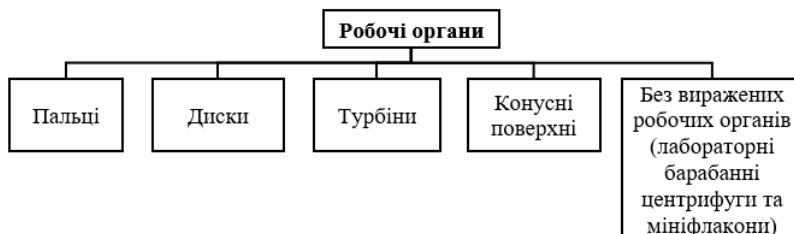


Рис. 13. Типи робочих органів бісерних млинів



Рис. 14. Типи сепараторів бісеру

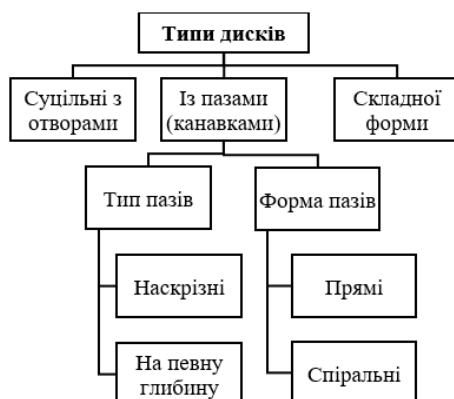


Рис. 15. Типи дисківих робочих органів бісерних млинів

Висновки. Клітини міцеліальних грибів, дріжджів, одноклітинних водоростей і бактерій містять цінні компоненти, зокрема білки, полісахариди, ліпіди, ферменти, пігменти, фенольні сполуки, компоненти для виробництва біопалива, біорозкладні

полімери, вітаміни, амінокислоти тощо, а деякі клітини, зокрема генетично-змінені мікроорганізми та одноклітинні водорості, продукують речовини з терапевтичними властивостями — рекомбінантні білки, складові вакцин, антитіла, інсулін тощо.

Багато із цих речовин неможливо або складно синтезувати іншими способами, тому для видобутку цінних компонентів клітини мікроорганізмів потрібно зруйнувати.

Механічні способи руйнування клітин мікроорганізмів використовують для порушення цілісності клітин, з метою їх подальшого розділення на рідку і тверду фази та видобування цінних компонентів.

Метод руйнування клітин мікроорганізмів у бісерних млинах є перспективним і застосовується в основному для оброблення суспензій міцеліальних грибів, дріжджів та окремих видів одноклітинних водоростей, які мають порівняно великий розмір клітини. Інші механічні методи, зокрема гомогенізація під високими тиском, застосовуються в основному для оброблення суспензій бактерій та одноклітинних водоростей.

У технологічних комплексах перероблення клітинної біомаси бісерний млин, зазвичай, знаходиться на початку машинно-апаратної схеми, після етапів культивування та концентрування клітин мікроорганізмів у центрифугах і сепараторах. Наступними операціями після оброблення в бісерних млинах є відцентрове розділення суспензії зруйнованих клітин на тверду і рідку фазу в центрифугах або сепараторах; вилучення цінних речовин із рідкої фази або клітинних стінок в екстракторах, абсорберах тощо; концентрування отриманих розчинів у мембранних апаратах або випарювання і сушіння.

Бісерний млин складається з таких основних частин: робоча камера (стакан, барабан); робочі органи; робочі тіла (бісер); сепаратор бісеру; охолоджувальна сорочка робочої камери; система циркуляції суспензії (зовнішній контур); система охолодження суспензії; привід робочих органів; привід сепаратора бісеру; станина; пристрій для фіксації робочої камери; система автоматизації та контролю.

Конструкція робочої камери бісерного млина може бути вертикальна, горизонтальна, конусна або без вираженої робочої камери у вигляді набору мініфлаконів. Орієнтація робочої камери незначно впливає на продуктивність бісерного млина, проте впливає на його функціональність. Об'єм робочої камери промислових бісерних млинів зазвичай складає 10—20 дм³.

Робочі органи бісерних млинів — диски, пальці або турбіни. В окремих випадках немає виражених робочих органів, наприклад, під час бісерного оброблення суспензій мікроорганізмів у барабанних центрифугах або мініфлаконах. Частота обертання робочих органів бісерного млина зазвичай складає 1 000—2 500 об/хв.

Дискові робочі органи можуть мати плоску поверхню або пази (канавки) — глухі і наскрізні, прямі і складної, зазвичай спіралеподібної форми. Основна мета пазів — створення інтенсивної циркуляції бісеру у робочій камері млина.

Бісер є складовою частиною машини — бісерного млина. У промислових умовах використовується бісер керамічний і металевий. Діаметр бісеру для руйнування клітин мікроорганізмів складає 0,4—0,6 мм, проте застосування робочих органів турбінного типу дає змогу використати менший розмір бісеру та підвищити продуктивність процесу.

Для відділення обробленої суспензії мікроорганізмів від бісеру використовуються сепаратори щільного, патронного та відцентрового типів. Найчастіше застосовують поєднання патронного і відцентрового сепаратора. Запропонована класифікація бісерних млинів та їх елементів може бути використана а навчальному процесі, під час вибору умов, режимів руйнування клітин мікроорганізмів та інтенсифікації процесу.

ЛИТЕРАТУРА

1. Akram, F. (2015). *Industrial Manufacturing of Insulin*. Режим доступа: <https://www.slideshare.net/slideshow/indusmanufacturing-of-insulin/49670824>.
2. Alavijeh, R. S., Karimi, K., Wijffels, R. H., van den Berg, C., Eppink, M. (2020). Combined bead milling and enzymatic hydrolysis for efficient fractionation of lipids, proteins, and carbohydrates of *Chlorella vulgaris* microalgae. *Bioresource Technology*, 309—321. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123321>.
3. Alhattab, M., Kermanshahi-Pour, A., Brooks, M. S.-L. (2019). Microalgae disruption techniques for product recovery — influence of cell wall composition. *Journal of Applied Phycology*, 31, 61—88. <https://doi.org/10.1007/s10811-018-1560-9>.
4. Aryal, S. (2021). Cell disruption — definition, methods, types, significance. *Microbe Notes*. Режим доступа: <https://microbenotes.com/cell-disruption-methods/>.
5. Ashizawa. (2015). Principles of Bead Mill Technology. Ashizawa Fenetech LTD. Режим доступа: https://www.ashizawa.com/en/technology/bead_mills.html.
6. Avramia, I. (2022). *Research on the extraction of β -glucans from spent brewer's yeast and their valorization in bioactive films*. Doctoral thesis. Suceava: "Ștefan cel Mare" University Of Suceava.
7. Avramia, I., Amariei, S. (2022a). A simple and efficient mechanical cell disruption method using glass beads to extract β -glucans from spent brewer's yeast. *Applied Sciences*, 12(2), 648.
8. Avramia, I., Amariei, S. (2021). Spent brewer's yeast as a source of insoluble β -glucans, *International Journal of Molecular Sciences*, 22, 825. <https://doi.org/10.3390/ijms22020825>.
9. Avramia, I., Amariei, S. (2022). A simple and efficient mechanical cell disruption method using glass beads to extract β -glucans from spent brewer's yeast. *Applied Sciences*, 12(2), 648. <http://dx.doi.org/10.3390/app12020648>.
10. Bai, M.-D., Chen, C.-Y., Lu, W.-C., Wan, H.-P., Ho, S.-H., Chang, J.-S. (2015). Enhancing the oil extraction efficiency of *Chlorella vulgaris* with cell-disruptive pretreatment using active extracellular substances from *Bacillus thuringiensis* itri-g1. *Biochemical Engineering*, 101, 185—190. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2015.05.020>.
11. Bajhaiya, A. K. (2012). *Approaches and prospectives for algal fuel*, In: The Science of Algal Fuels, ed. Gordon Richard, Seckbach Joseph, Springer.
12. Batt, C. A. (2014). Alcaligenes. In: Batt, C. A., Tortorello, M. L. (eds.). *Encyclopedia of Food Microbiology (2 ed.)*, 38—41. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00006-9>.
13. Bernaerts, T. M. M., Gheysen, L., Foubert, I., Hendrickx, M. E., Loey, A. M. V. (2019). Evaluating microalgal cell disruption upon ultra high pressure homogenization. *Algal Research*, 42. 101616. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101616>.
14. Bhat, G. S., Deekshitha, B. K., Thivaharan, V., Divyashree, M. S. (2024). Physicochemical cell disruption of *Bacillus* sp. for recovery of polyhydroxyalkanoates: future bioplastic for sustainability. *3 Biotech*, 14, 59. <https://doi.org/10.1007/s13205-024-03913-y>.
15. Boyee. (2025). Boyee NANO bead mill machine for laboratory-boyee patent turbine rotor structure. Boyee. Режим доступа: <https://www.boyee-mill.com.cn/boyee-nmm-laboratory-bead-mill-multi-functional-experimental-bead-mill-1-2l-turbine-rotor.html>.
16. Cambridge. (2025). *Disintegration*. Cambridge University Press & Assessment. Режим доступа: <https://dictionary.cambridge.org/dictionary/english/disintegration>.
17. Chacón-Lee, T. L., González-Mariño, G. E. (2010). Microalgae for "Healthy" foods — possibilities and challenges. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(6), 655—675. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2010.00132.x>.
18. Chemtech. (2025). *Bead Mill — Grinding & Dispersing*. Chemtech division. Режим доступа: <http://www.hiroshimamm-chemtech.com/en/knowledge/detail01/>.
19. Demuez, M., Mahdy, A., Tomás-Pejó, E., González-Fernández, C., Ballesteros, M. (2015). Enzymatic cell disruption of microalgae biomass in biorefinery processes. *Biotechnology and Bioengineering*, 112(10), 1955—1966. <https://doi.org/10.1002/bit.25644>.
20. Draaisma, R. B., Wijffels, R. H., Slegers, P. M. E., Brentner, L. B., Roy, A., Barbosa, M. J. (2013). Food commodities from microalgae. *Current Opinion in Biotechnology*, 24(2), 169—177. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2012.09.012>.

21. Eggenreich, B., Rajamanickam, V., Wurm, D. J. (2017). A combination of HPLC and automated data analysis for monitoring the efficiency of high-pressure homogenization. *Microbial Cell Factories*, 16, 134. <https://doi.org/10.1186/s12934-017-0749-y>.
22. ELE. (2025). Bead Mill. ELE® company. Режим доступу: <https://www.ele-mix.com/bead-mill/bead-mills.html>.
23. ELE. (2025a). Disc Type Bead Mill. ELE® company. Режим доступу: <https://www.ele-mix.com/bead-mill/disc-type-bead-mill.html>.
24. ELE. (2025b). Working Principle of Bead Mill. ELE® company. Режим доступу: <https://www.ele-mix.com/news/working-principle-of-bead-mill-24426552.html>.
25. García, P., Fredes, C., Cea, I., Lozano-Sánchez, J., Leyva-Jiménez, F. J., Robert, P., Vergara, C., Jimenez, P. (2021). Recovery of bioactive compounds from pomegranate (*Punica granatum* L.) peel using pressurized liquid extraction. *Foods (Basel, Switzerland)*, 10(2), 203. <https://doi.org/10.3390/foods10020203>.
26. Georgianna, D. R., Hannon, M. J., Marcuschi, M., Wu, S., Botsch, K., Lewis, A. J., Hyun, J., Mendez, M., Mayfield, S. P. (2013). Production of recombinant enzymes in the marine alga *Dunaliella tertiolecta*. *Algal Research*, 2(1), 2—9. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2012.10.004>.
27. Gomes, T. A., Zanette, C. M., Spier, M. R. (2020). An overview of cell disruption methods for intracellular biomolecules recovery. *Preparative Biochemistry Biotechnology*, 50(7), 635—654. <https://doi.org/10.1080/10826068.2020.1728696>.
28. Gouveia, L., Oliveira, A. C. (2009). Microalgae as a raw material for biofuels production. *Journal of Industrial Microbiology Biotechnology*, 36(2), 269—274. <https://doi.org/10.1007/s10295-008-0495-6>.
29. Greenwell, H. C., Laurens, L. M. L., Shields, R. J., Lovitt, R. W., Flynn, K. J. (2010). Placing microalgae on the biofuels priority list: a review of the technological challenges. *Journal of the Royal Society Interface*, 7(46), 7703—7726. <http://doi.org/10.1098/rsif.2009.0322>.
30. Günerken, E., D'Hondt, E., Eppink, M., Elst, K., Wijffels, R. (2017). Flow cytometry to estimate the cell disruption yield and biomass release of *Chlorella* sp. during bead milling. *Algal Research*, 25, 25—31. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2017.04.033>.
31. Heim, A., Kamionowska, U., Solecki, M. (2007). The effect of microorganism concentration on yeast cell disruption in a bead mill. *Journal of Food Engineering*, 83(1), 121—128. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.02.047>.
32. Hrininh, K., Hordeichuk, R., Gubenia, O. (2018). Comparative analysis of equipment and research the superfine grinding process of titanium dioxide and quinacridone red suspensions in the bead mill. *Ukrainian Journal of Food Science*, 6(1), 82—94.
33. Hrininh, K., Hordeichuk, R., Gubenia, O. (2018a). Investigation the process of superfine grinding of components of pharmaceutical and cosmetic products on the bead mill. *Proceedings of University of Ruse*, 57(10.3), 41—45.
34. Ivanov, V., Shevchenko, O., Marynin, A., Stabnikov, V., Gubenia, O., Stabnikova, O., Shevchenko, A., Gavva, O., Saliuk, A. (2021). Trends and expected benefits of the breaking edge food technologies in 2021—2030. *Ukrainian Food Journal*, 10(1), 7—36. <https://doi.org/10.24263/2304-974X-2021-10-1-3>.
35. Kandilian, R., Lee, E., Pilon, L. (2013). Radiation and optical properties of *Nannochloropsis oculata* grown under different irradiances and spectra. *Bioresource Technology*, 137, 63—73. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.03.058>.
36. Khanra, S., Mondal, M., Halder, G., Tiwari, O. N., Gayen, K., Bhowmick, T. K. (2018). Downstream processing of microalgae for pigments, protein and carbohydrate in industrial application: A review. *Food and Bioproducts Processing*, 110, 60—84. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2018.02.002>.
37. Khavari, F., Saidijam, M., Taheri, M., Nouri, F. (2021). Microalgae: therapeutic potentials and applications. *Molecular Biology Reports*, 48(5), 4757—4765. <https://doi.org/10.1007/s11033-021-06422-w>.
38. Kovač, T., Stuburić, M., Crevar, M., Kovač, M., Nevistić, A., Lončarić, A., Šarkanj, B. (2019). Disruption of *Aspergillus flavus* cells: a bead mill homogenization method. *Food in Health and Disease, Scientific-Professional Journal of Nutrition and Dietetics*, 8(1), 13—18.
39. Kozytskyi, K., Osadchyi, D., Omelianenko, K., Hrininh, K. (2025). Improvement of the separation device of the bead mill. *91st International scientific conference of young scientist and students "Youth scientific achievement to the 21st century nutrition problem solution"*, April, 7—11. Book of Abstract. Part 2. Kyiv: NUFT, 45.

40. Kryzhova, Yu., Antonuk, M., Stabnikov, V., Stabnikova, O. (2021). Stability of selenium and iodine in the functional meat products prepared with seaweeds under different cooking procedures. *Ukrainian Food Journal*, 10(1), 136—144. <https://doi.org/10.24263/2304-974X-2021-10-1-12>.
41. Larrosa, A. P. Q., Camara, Á. S., Moura, J. M., Pinto, L. A. A. (2018). *Spirulina* sp. biomass dried/disrupted by different methods and their application in biofilms production. *Food Science and Biotechnology*, 27(6), 1659—1665. <https://doi.org/10.1007/s10068-018-0397-y>.
42. Lee, J. Y., Yoo, C., Jun, S. Y., Ahn, C. Y., Oh, H. M. (2010). Comparison of several methods for effective lipid extraction from microalgae. *Bioresource Technology*, 101, 75—77. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.03.058>.
43. Liu, S., Gifuni, I., Mear, H., Frappart, M., Couallier, E. (2021). Recovery of soluble proteins from *Chlorella vulgaris* by bead-milling and microfiltration: Impact of the concentration and the physicochemical conditions during the cell disruption on the whole process. *Process Biochemistry*, 108, 34—47. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2021.05.021> (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359511321001720>).
44. Ljubic, A., Thulesen, E. T., Jacobsen, E. T., Jakobsen, J. (2021). UVB exposure stimulates production of vitamin D₃ in selected microalgae. *Algal Research*, 59, 102472. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102472>.
45. Loh, Z. H., Samanta, A. K., Heng, P. W. S. (2015). Overview of milling techniques for improving the solubility of poorly water-soluble drugs. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 10, 255—274. <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2014.12.006>.
46. Matos, J., Cardoso, C., Bandarra, N. M., Afonso, C. (2017). Microalgae as healthy ingredients for functional food: A review. *Food Function*, 8(8), 2672—2685. <https://doi.org/10.1039/C7FO00409E>.
47. McClements, D. J. (2008). *Lipid-based emulsions and emulsifiers*. In: Akoh, C. C.; Min, David B. (eds.). *Food Lipids: Chemistry, Nutrition, and Biotechnology*. Food Science and Technology (Third ed.). Boca Raton: CRC.
48. McMillan, J. R., Watson, J. R., Ali, M., Jaafar, W. (2013). Evaluation and comparison of algal cell disruption methods: Microwave, waterbath, blender, ultrasonic and laser treatment, *Applied Energy*, 103, 128—134. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2012.09.020>.
49. Melendres, A. V., Honda, H., Shiragami, N., Unno, H. (1991). A kinetic analysis of cell disruption by bead mill. The influence of bead loading, bead size and agitator speed. *Bioseparation*, 2(4), 231—236.
50. Montalescot, V., Rinaldi, T., Touchard, R., Jubeau, S., Frappart, M., Jaouen, P., Bourseau, P., Marchal, L. (2015). Optimization of bead milling parameters for the cell disruption of microalgae: process modeling and application to *Porphyridium cruentum* and *Nannochloropsis oculata*. *Bioresource Technology*, 196, 339—346. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.07.075>.
51. Netzsch. (2025). *Grinding Dispersing*. Режим доступа: <https://www.netzsch-grinding.com>.
52. Omelianenko, K., Kasyniuk, M., Gubenia, O., Avramia, I. (2025). Assessment of destruction of microorganism cells during processing in bead mill. *91st International scientific conference of young scientist and students "Youth scientific achievement to the 21st century nutrition problem solution"*, April, 7—11, 2025. Book of abstract. Part 2, Kyiv: NUFT.
53. Patravale, V. B., Date, A. A., Kulkarni, R. M. (2004). Nanosuspensions: a promising drug delivery strategy. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 56(7), 827—840. <https://doi.org/10.1211/0022357023691>.
54. Pohndorf, R. S., Álisson, S., Camara Ana P. Q., Larrosa Cláudio, P., Pinheiro Monique, M., Strieder Luiz, A. A., Pinto. (2016). Production of lipids from microalgae *Spirulina* sp.: Influence of drying, cell disruption and extraction methods. *Biomass and Bioenergy*, 93, 25—32. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2016.06.020>.
55. Postma, P. R., Miron, T. L., Olivieri, G., Barbosa, M. J., Wijffels, R. H., Eppink, M. H. M. (2015). Mild disintegration of the green microalgae *Chlorella vulgaris* using bead milling. *Bioresource Technology*, 184, 297—304. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.09.033>.
56. ProXES. (2014). Stirrer Bead Mill 2014. Режим доступа: <https://pdf.directindustry.com/pdf/proxes-gmbh/stirrer-bead-mill-2014/67556-565079.html>.

57. Quesada-Salas, M., Delfau, G., Willig, G., Pr at, N., Allais, F., Ioannou, I. (2021). Article optimization and comparison of three cell disruption processes on lipid extraction from microalgae. *Processes*, 9(2), 369. <https://doi.org/10.3390/pr9020369>.
58. Quesada-Salas, M. C., Delfau-Bonnet, G., Willig, G., Pr at, N., Allais, F., Ioannou, I. (2021). Optimization and comparison of three cell disruption processes on lipid extraction from microalgae. *Processes*, 9, 369. <https://doi.org/10.3390/pr9020369>.
59. Rahman, M. M., Hosano, N., Hosano, H. (2022). Recovering microalgal bioresources: a review of cell disruption methods and extraction technologies. *Molecules*, 27(9), 2786. <https://doi.org/10.3390/molecules27092786>.
60. Ramana, K. V., Xavier, J. R., Sharma, R. K. (2017). Recent trends in pharmaceutical biotechnology, *Pharmaceutical Biotechnology: Current Research*, 1(5). Режим доступу: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8142882>.
61. Ramanan, R. N., Ling, T. C., Ariff, A. B. (2008). The performance of a glass bead shaking technique for the disruption of *Escherichia coli* cells. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 13, 613—623. <https://doi.org/10.1007/s12257-008-0047-y>.
62. Rahman, M. M., Hosano, N., Hosano, H. (2022). Recovering microalgal bioresources: a review of cell disruption methods and extraction technologies. *Molecules*, 27(9), 2786. <https://doi.org/10.3390/molecules27092786>.
63. Razaghi, A., Godhe, A., Albers, E. (2014). Effects of nitrogen on growth and carbohydrate formation in *Porphyridium cruentum*. *Open Life Sciences*, 9(2), 156—162. <https://doi.org/10.2478/s11535-013-0248-z>.
64. Riggs, A. D. (2021). Making, cloning, and the expression of human insulin genes in bacteria: the path to humulin. *Endocrine Reviews*, 42(3), 374—380. <https://doi.org/10.1210/edrv/bnaa029>.
65. Rizwan, M., Muftaba, G., Memon, S. A., Lee, K., Rashid, N. (2018). Exploring the potential of microalgae for new biotechnology applications and beyond: a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 92, 394—404. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.04.034>.
66. R sch, C., Ro mann, M., Weickert, S. (2018). Microalgae for integrated food and fuel production. *GCB Bioenergy*, 11, 326—334. <https://doi.org/10.1111/gcbb.12579>.
67. Ryckebosch, E., Muylaert, K., Foubert, I. (2012). Optimization of an analytical procedure for extraction of lipids from microalgae. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 89, 189—198. <https://doi.org/10.1007/s11746-011-1903-z>. [DOI].
68. Safi, C., Frances, C., Ursu, A. V., Laroche, C., Pouzet, C., Vaca-Garcia, C., Pontalier, P.-Y. (2015). Understanding the effect of cell disruption methods on the diffusion of *Chlorella vulgaris* proteins and pigments in the aqueous phase. *Algal Research*, 8, 61—68. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.01.002>.
69. Safi, C., Ursu, A. V., Laroche, C., Zebib, B., Merah, O., Pontalier, P.-Y., Vaca-Garcia, C. (2014). Aqueous extraction of proteins from microalgae: Effect of different cell disruption methods. *Algal Research*, 3, 61—65. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2013.12.004>.
70. Sathish, A., Marlar, T., Sims, R. C. (2015). Optimization of a wet microalgal lipid extraction procedure for improved lipid recovery for biofuel and bioproduct production. *Bioresource Technology*, 193, 15—24. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.06.052> (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852415008433>).
71. Siddiki, Sk. Y. A., Mofijur, M., Kumar, P. S., Ahmed, S. F., Inayat, A., Kusumo, A., Badrudin, I. A., Khan, L. D., Nghiem, L. D., Ong, H. C., Mahlia, T. (2022). Microalgae biomass as a sustainable source for biofuel, biochemical and biobased value-added products: An integrated biorefinery concept. *Fuel*, 307, 121782. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2021.121782>.
72. Siew, Y. Y., Zhang, W. (2021). Downstream processing of recombinant human insulin and its analogues production from *E. coli* inclusion bodies. *Bioresources and Bioprocessing*, 8, 65. <https://doi.org/10.1186/s40643-021-00419-w>.
73. SiLi. (2025). *Sigmund Lindner GmbH*, Режим доступу: <https://www.sigmund-lindner.com>.
74. Singhvi, P., Saneja, A., Srichandan, S., Panda, A. K. (2020). Bacterial inclusion bodies: a treasure trove of bioactive proteins. *Trends in Biotechnology*, 38(5), 474—486. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2019.12.011>.
75. Steinb chel, A. (2002). *Biopolymers*. Wiley-VCH.

76. Suarez, G. E., van Leeuwen, J., Safi, C., Sijtsma, L., Eppink, M. H. M., Wijffels, R. H., van den Berg, C. (2018). Selective and energy efficient extraction of functional proteins from microalgae for food applications. *Bioresource Technology*, 268, 197—203. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.07.131>.
77. Tamer, I., Moo-Young, M., Chisti, Y. (1998). Optimization of poly (β -hydroxybutyric acid) recovery from *Alcaligenes latus*: combined mechanical and chemical treatments. *Bioprocess Engineering*, 19, 459—468. <https://doi.org/10.1007/PL00009030>.
78. Tang, Z., Zhao, J., Ju, B., Li, W., Wen, S., Pu, Y., Qin, S. (2016). One-step chromatographic procedure for purification of B-phycoerythrin from *Porphyridium cruentum*. *Protein Expression and Purification*, 123, 70—74. <https://doi.org/10.1016/j.pep.2016.01.018>.
79. Thermofisher. (2024). R-phycoerythrin (R-PE). Режим доступу: <https://www.thermofisher.com/ua/en/home/life-science/cell-analysis/fluorophores/r-phycoerythrin.html>.
80. Tennenhouse, E. (2017). Better cell disruption with beads, getting a quick grind without breaking the bank. *Lab Manager*. Режим доступу: <https://www.labmanager.com/better-cell-disruption-with-beads-2711>.
81. Tonghui. (2025). Vertical Bead Mill. Suzhou Tonghui. Режим доступу: <https://tonghuimix.com/dcd-vertical-bead-mill/>.
82. Tsykhanovska, I., Stabnikova, O., Oliinyk, S., Lazarieva, T., Gubsky, S. (2024). Application of combined food additive based on iron oxide nanoparticles and kombu in a rye-wheat bread technology. *Ukrainian Food Journal*, 13(3), 576—596. <https://doi.org/10.24263/2304-974X-2024-13-3-10>.
83. Van Gaver, D., Huyghebaert, A. (1991). Optimization of yeast cell disruption with a newly designed bead mill. *Enzyme and Microbial Technology*, 13(8), 665—671. [https://doi.org/10.1016/0141-0229\(91\)90082-L](https://doi.org/10.1016/0141-0229(91)90082-L).
84. Viganì, M., Parisi, C., Rodríguez-Cerezo, E., Barbosa, M. J., Sijtsma, L., Ploeg, M., Enzing, C. (2015). Food and feed products from micro-algae: Market opportunities and challenges for the EU. *Trends in Food Science Technology*, 42(1), 81—92. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2014.12.004>.
85. Wang, Yi., Hammes, F., De Roy, K., Verstraete, W., Boon, N. (2010). Past, present and future applications of flow cytometry in aquatic microbiology. *Trends in Biotechnology*, 28(8), 416—424. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2010.04.006>.
86. Wijffels, R. H., Barbosa, M. J., Eppink, M. H. (2010). Microalgae for the production of bulk chemicals and biofuels. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 4, 287—295. <https://doi.org/10.1002/bbb.215>.
87. Yu, X., Dong, T., Zheng, Yu., Miao, Ch., Chen, S. (2014). Investigations on cell disruption of oleaginous microorganisms — hydrochloric acid digestion is an effective method for lipid extraction. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 117(5), 730—737. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201400195>.
88. Yan, N., Fan, C., Chen, Y., Hu, Z. (2016). The potential for microalgae as bioreactors to produce pharmaceuticals. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(6), 962. <https://doi.org/10.3390/ijms17060962>.
89. Yap, B. H. J., Dumsday, G. J., Scales, P. J., Martin, G. J. O. (2015). Energy evaluation of algal cell disruption by high pressure homogenisation. *Bioresource Technology*, 184, 280—285. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.11.049>.
90. Zahra, Z., Samin, K., Maryam, R., Kamiar, Z. (2024). Antifungal drug susceptibility profile of *Candida kefyr* isolated from clinical samples and dairy products. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology*, 1. <https://doi.org/10.1155/2024/6594366>.
91. Zheng, H., Yin, J., Gao, Z., Huang, H., Ji X., Dou, C. (2011). Disruption of *Chlorella vulgaris* cells for the release of biodiesel-producing lipids — a comparison of grinding, ultrasonication, bead milling, enzymatic lysis, and microwaves. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 164, 1215—1224. <https://doi.org/10.1007/s12010-011-9207-1>.
92. Zulhijah, R., Suhendi, R., Yoshimi, K., Kartikowati, C. W., Ogi, C. W., Iwaki, T., Okuyama, K. (2015). Low-Energy Bead-Mill Dispersion of Agglomerated Core-Shell α -Fe/Al₂O₃ and α "-Fe₁₆N₂/Al₂O₃ Ferromagnetic Nanoparticles in Toluene. *Langmuir*, 31(22), 6011—6019. <http://doi.org/10.1021/acs.langmuir.5b00901>.
93. Бондаренко, А. А., Дубінін, О. О., Переяславцев, О. М. (2004). *Теоретична механіка. У 2-х т. Ч. 2. Динаміка*. Київ: Знання.

94. Грінінг, К. Р., Губеня, О. О. (2023). Зміна реологічних властивостей суспензії лікарських і косметичних засобів під час подрібнення в бісерних млинах. *Харчова промисловість*, 33—34. 106—115. <https://doi.org/10.24263/2225-2916-2023-33-34-14>.

95. Грінінг, К. Р., Пономаренко, А. М., Губеня, О. О. (2023a). Робочі тіла бісерних млинів. *Тренди Leap-виробництва та пакування харчової продукції: матеріали 12-ї Міжн. спеціалізованої науково-практичної конференції, 20 вересня 2023 р., м. Київ*. Київ: НУХТ.

96. Малежик, І. Ф., Зав'ялов, В. Л., Шевченко, О.Ю. та ін. (2021). *Процеси і апарати харчових виробництв* / за ред. І. Ф. Малежика. Київ: НУХТ, 2021.

97. Омеляненко, К. А. (2024). Механічні способи руйнування клітин мікроорганізмів у виробництві продукції біотехнологічного синтезу. *Тренди Leap-виробництва та пакування харчової продукції: матеріали 13-ї Міжнародної спеціалізованої науково-практичної конференції, 17 вересня 2024 р., м. Київ*. Київ: НУХТ, 2024.

98. Омеляненко, К., Осадчий, Д., Грінінг, К., Губеня, О. (2025a). Вплив типу робочих органів на продуктивність руйнування клітин мікроорганізмів у бісерному млині. *91st International scientific conference of young scientist and students "Youth scientific achievement to the 21st century nutrition problem solution", April, 7—11, 2025. Book of Abstract. Part 2*. Kyiv: NUFT.

99. Теличкун, В. І., Гавва, О. М., Теличкун, Ю. С., Десик, М. Г., Чепелюк, О. М. (2017). *Технологічні комплекси харчових виробництв*. Київ: Видавництво «Сталь».

100. Теличкун, В. І., Теличкун, Ю. С., Губеня, О. О., Стефанов, С. В., Дамянова С. Т. (2024). *Технологічне обладнання харчових виробництв*. Київ: Видавництво «Сталь».