

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

“01” жовтня 2025 року

З А В Д А Н Н Я

НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

КОСОВЦЯ Івана Романовича

(прізвище, ім'я, та по батькові)

1. Тема роботи «Біосинтез полігидроксиалканоатів із відновлюваної рослинної сировини»

керівник роботи СТАБНІКОВ Віктор Петрович, д.т.н., професор,
(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)

затверджені наказом закладу вищої освіти від 05.11.2025 року № 912-кс

2. Строк подання здобувачем роботи 26.11.2025 р.

3. Вихідні дані до роботи Синтез полігидроксиалканоатів біологічними агентами. Використання рослинної сировини як субстрату. Етапи виділення та очищення. Створення агроплівки на основі полігидроксиалканоатів.

4. Зміст пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити) Реферат, Вступ, РОЗДІЛ 1. Біологічні агенти, що синтезують полігидроксиалканоати. РОЗДІЛ 2. Рослинна сировина та методи її підготовки для біосинтезу полігидроксиалканоатів. РОЗДІЛ 3. Біотехнологічне одержання полігидроксиалканоатів та їх практичне використання. РОЗДІЛ 4. Техніко-економічне обґрунтування. РОЗДІЛ 5. Обґрунтування вибору стадій технологічного процесу для одержання субстанції полігидроксиалканоату. РОЗДІЛ 6. Опис технологічної схеми виділення та очищення полігидроксиалканоату. РОЗДІЛ 7. Технологічні особливості отримання агроплівки на основі полігидроксиалканоату. РОЗДІЛ 8. Контроль виробництва. РОЗДІЛ 9. Проєкт заявки на корисну модель.

5. Перелік графічного матеріалу 2 аркуша формату А1. Апаратурна схема, 2 аркуша формату А1. Технологічна схема післяферментаційних стадій отримання полігидроксиалканоатів та виробництво біорозкладної агроплівки для мульчування.

6. Консультанти розділів роботи

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

7. Дата видачі завдання 01 жовтня 2025 року

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№	Назва етапів виконання кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1	Розділ 1. Біологічні агенти, що синтезують полігидроксиалканоати.	01.10.2025-07.10.2025	
2	Розділ 2. Рослинна сировина та методи її підготовки для біосинтезу полігидроксиалканоатів.	05.10.2025-10.10.2025	
3	Розділ 3. Біотехнологічне одержання полігидроксиалканоатів та їх практичне використання.	10.10.2025-15.10.2025	
4	Розділ 4. Техніко-економічне обґрунтування.	15.10.2025-20.10.2025	
5	Розділ 5. Обґрунтування вибору стадій технологічного процесу для одержання субстанції полігидроксиалканоату.	20.10.2025-25.10.2025	
6	Розділ 6. Опис технологічної схеми виділення та очищення полігидроксиалканоату.	25.10.2025-31.10.2025	
7	Розділ 7. Технологічні особливості отримання агроплівки на основі полігидроксиалканоату.	01.11.2025-05.11.2025	
8	Розділ 8. Контроль виробництва.	05.11.2025-08.11.2025	
9	Розділ 9. Проєкт заявки на корисну модель.	08.11.2025-12.11.2025	
10	Оформлення графічної частини	12.11.2025-17.11.2025	
11	Оформлення списку літературних джерел	17.11.2025-19.11.2025	
12	Оформлення вступу та реферату	19.11.2025-21.11.2025	
13	Оформлення презентації	21.11.2025-23.11.2025	
14	Оформлення пояснювальної записки	23.11.2025-26.11.2025	

Здобувач _____
(підпис)

Керівник роботи _____
(підпис)

Іван КОСОВЕЦЬ _____
(ім'я та прізвище)

Віктор СТАБНІКОВ _____
(ім'я та прізвище)

РЕФЕРАТ

У кваліфікаційній роботі досліджено можливості біосинтезу полігідроксиалканоатів (ПГА) — біорозкладних мікробних поліестерів — з використанням відновлюваної рослинної сировини. Проаналізовано основні групи біологічних продуцентів, зокрема бактерії, археї, ціанобактерії та рекомбінантні штами. Показано, що найбільш продуктивними й технологічно придатними для промислового виробництва ПГА є бактерії роду *Cupriavidus* та генетично модифіковані штами, які здатні синтезувати високі концентрації полімера, включно з кополімером РНВННх.

Розглянуто різновиди рослинної сировини — лігноцелюлозні матеріали, відходи переробки сільськогосподарських культур, рослинні олії та гідролізати. Описано фізико-хімічні та ферментативні методи підготовки сировини до процесу ферментації. Узагальнено літературні дані про вплив типу субстрату на вихід ПГА та структуру полімеру. Показано, що оптимізація гідролізу, складу поживного середовища й параметрів культивування дозволяє ефективно використовувати рослинну біомасу як основу для біосинтезу.

Подано короткий опис технологічної схеми виділення та очищення ПГА із бактеріальної біомаси, включаючи осадження, екстракцію, фільтрацію та сушіння. Особливу увагу приділено досягненню необхідних властивостей кінцевого продукту та мінімізації витрат на стадіях очищення.

Кваліфікаційна робота складається зі вступу, 9 розділів, висновків та списку літератури (94 статей/патентів та 50 інтернет посилань). В роботі наведено 4 рисунки та 17 таблиць. Графічна частина складається з технологічної та апаратурної схеми по 2 листи формату А1.

Ключові слова: полігідроксиалканоати, агротехнології, мульчування ґрунту, огірки, РНВННх, *Cupriavidus necator* MF01/pBPP-ccrMeJAc-emd

ABSTRACT

This qualification thesis examines the potential for the biosynthesis of polyhydroxyalkanoates (PHAs)—biodegradable microbial polyesters—using renewable plant-based raw materials. The main groups of biological producers, including bacteria, archaea, cyanobacteria, and recombinant strains, are analysed. It is shown that the most productive and technologically suitable microorganisms for industrial PHA production are *Cupriavidus* species and genetically modified strains capable of synthesizing high polymer concentrations, including the copolymer PHBHHx.

Various types of plant raw materials are considered, such as lignocellulosic materials, agricultural processing residues, plant oils, and hydrolysates. Physicochemical and enzymatic methods for preparing these substrates for fermentation are described. Literature data on the influence of substrate type on PHA yield and polymer structure are summarised. It is demonstrated that the optimisation of hydrolysis, nutrient medium composition, and cultivation parameters enables efficient utilisation of plant biomass for biosynthesis.

A concise description of the technological scheme for PHA isolation and purification from bacterial biomass is provided, including precipitation, extraction, filtration, and drying. Particular attention is paid to achieving the required properties of the final product and minimising costs during purification stages.

The thesis consists of an introduction, nine chapters, conclusions, and a list of references. The work includes 4 figures and 17 tables. The graphical part contains a technological and an equipment scheme, two A1-format sheets each.

Keywords: polyhydroxyalkanoates, agrotechnologies, soil mulching, cucumbers, PHBHHx, *Cupriavidus necator* MF01/pBPP-ccrMeJAc-emd

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ПГА – полігідроксиалканоат(и)

ПГБВ - полі(3-гідроксибутират-ко-3-гідроксивалерат)

ПГБ – полі-3-гідроксибутират

3-ПГБ-ко-4-ПГБ – полі(3-гідроксибутират-ко-4-гідроксибутират)

3-ПГБ-ко-3-ПГА - полі(3-гідроксибутират-ко-3-гідроксиалканоат)

ПГДД - полі-3-гідроксидодеканоат

РНВННх - 3-гідроксибутират-ко-3-гідроксигексаноат

ЗМІСТ

ВСТУП.....	9
РОЗДІЛ 1. БІОЛОГІЧНІ АГЕНТИ, ЩО СИНТЕЗУЮТЬ ПОЛІГІДРОКСИАЛКАНОАТИ.....	11
1.1. Бактеріальні продуценти полігидроксиалканоев.....	11
1.2. Археї як потенційні продуценти ПГА.....	12
1.3. Ціанобактерії як продуценти ПГА.....	17
1.4. Застосування рекомбінантних технологій для біосинтезу ПГА.....	20
РОЗДІЛ 2. РОСЛИННА СИРОВИНА ТА МЕТОДИ ЇЇ ПІДГОТОВКИ ДЛЯ БІОСИНТЕЗУ ПОЛІГІДРОКСИАЛКАНОАТІВ.....	27
РОЗДІЛ 3. БІОТЕХНОЛОГІЧНЕ ОДЕРЖАННЯ ПОЛІГІДРОКСИАЛКАНОАТІВ ТА ЇХ ПРАКТИЧНЕ ВИКОРИСТАННЯ.....	33
3.1. Виділення та очищення ПГА.....	33
3.2. Практичне застосування ПГА.....	41
РОЗДІЛ 4. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ.....	45
4.1. Характеристика полігидроксиалканоев.....	45
4.2. Огляд ринку плівок для мульчування.....	49
4.3. Розрахунок річної потужності виробництва.....	56
РОЗДІЛ 5. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ СТАДІЙ ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ ДЛЯ ОДЕРЖАННЯ СУБСТАНЦІЇ ПОЛІГІДРОКСИАЛКАНОАТУ.....	62
5.1. Обгрунтування вибору післяферментаційних процесів отримання субстанції полігидроксиалканоев.....	62
5.1.1. Обгрунтування попередньої обробки культуральної рідини.....	65
5.1.2. Обгрунтування відокремлення біомаси від культуральної рідини.....	66
5.1.3. Обгрунтування сушіння біомаси перед екстракцією полігидроксиалканоев.....	68
5.1.4. Обгрунтування подрібнення біомаси перед екстракцією полігидроксиалканоев.....	70

5.1.5. Обґрунтування розчинника для екстракції полігідроксиалканоату	71
5.1.6. Обґрунтування осадження полігідроксиалканоату	74
5.1.7. Обґрунтування сушіння очищеного полігідроксиалканоату	75
5.2. Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіях	77
5.3. Специфікація обладнання	81
РОЗДІЛ 6. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ВИДІЛЕННЯ ТА ОЧИЩЕННЯ ПОЛІГІДРОКСИАЛКАНОАТУ	84
РОЗДІЛ 7. ТЕХНОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ОТРИМАННЯ АГРОПЛІВКИ НА ОСНОВІ ПОЛІГІДРОКСИАЛКАНОАТУ	87
7.1. Обґрунтування вибору товарної форми випуску полігідроксиалканоату	87
7.2. Обґрунтування технологічних особливостей одержання плівки для мульчування	90
7.3. Специфікація обладнання	91
7.4. Опис технологічного процесу	92
РОЗДІЛ 8. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА	94
8.1. Контроль виробництва субстанції полігідроксиалканоату	94
8.2. Методи контролю агроплівки на основі полігідроксиалканоату	98
РОЗДІЛ 9. ПРОЄКТ ЗАЯВКИ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ	103
9.1. Галузь і застосування корисної моделі	103
9.2. Відомі аналоги та їх основні недоліки	103
9.3. Постановка задачі корисної моделі та її вирішення	104
9.4. Опис запропонованого способу	105
9.5. Формула корисної моделі	107
9.6. Реферат	108
ВИСНОВКИ	109
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ	110

ВСТУП

Сучасна хімічна та біотехнологічна промисловість усе активніше орієнтується на екологічно безпечні, біосумісні та біорозкладні матеріали, які могли б замінити традиційні полімери на основі нафти. Одним із перспективних класів таких матеріалів є полігідроксиалканоати (ПГА) — мікробні поліефіри, які синтезуються різними прокаріотичними організмами у вигляді внутрішньоклітинних запасів вуглецю та енергії (Poltronieri, & Kumar, 2017). Серед них особливу увагу привертає кополімер полі(3-гідроксибутират-ко-3-гідроксігексаноат), відомий як РНВННх. Він вирізняється гнучкістю, біосумісністю, хорошою біорозкладністю та кращими механічними властивостями порівняно з традиційним РНВ (Eraslan et al., 2022).

Хоча мікробіологічний синтез РНВННх добре описаний у науковій літературі, ефективне виділення та очищення цього полімеру в промисловому масштабі залишається технологічно складним і затратним процесом (Eraslan et al., 2022). Вибір оптимальної методики екстракції, очищення та формування кінцевого продукту безпосередньо впливає на собівартість, екологічну безпечність та якість отриманого біополімеру. Тому важливим завданням сучасної біотехнології є оптимізація кожного етапу: від відділення клітинної біомаси від культуральної рідини — до отримання готової субстанції у зручній для використання формі.

У даній роботі розглянуто промислову схему виділення та очищення РНВННх із врахуванням особливостей продуцента *Cupriavidus necator* MF01/pBPP-ccrMeJAc-emd (Tanaka, Orita, & Fukui, 2025). Запропонована схема базується на адаптації відомих підходів, апробованих для споріднених грамнегативних бактерій, і охоплює ключові технологічні етапи: осадження біомаси, сушіння, подрібнення, екстракцію полімеру, фільтрування, центрифугування, осадження з розчину, промивання і фінальне сушіння (Chen,

					<i>НУХТ БТЕК 02.01.04 КР ПЗ</i>			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Косовець І.Р.			<i>ВСТУП</i>	Лім.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Стабніков В.П.					9	122
Реценз.						<i>Кафедра БТМ</i>		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

Zhang, Park, & Lee, 2001). Окрема увага приділена питанню досягнення бажаного забарвлення полімеру та підготовки його до подальшого використання у виробництві біоматеріалів.

РОЗДІЛ 1

БІОЛОГІЧНІ АГЕНТИ, ЩО СИНТЕЗУЮТЬ ПОЛІГІДРОКСИАЛКАНОАТИ

1.1. Бактеріальні продуценти полігидроксиалканонатів

Біосинтез ПГА відбувається у прокаріотичних клітинах як механізм зберігання вуглецю та енергії в умовах надлишку субстратів (наприклад, вуглецю) і обмеження інших елементів, таких як азот, фосфор або кисень. Субстрати трансформуються у ключові метаболіти, такі як ацетил-КоА або пропіоніл-КоА, які є попередниками для синтезу мономерів ПГА (Steinbüchel & Hein, 2001).

У катаболічних шляхах, таких як гліколіз або β -окиснення жирних кислот, утворюється ацетил-КоА. Для синтезу інших мономерів, таких як 3-гідроксибутират, може залучатися пропіоніл-КоА або сукциніл-КоА. Ключовий фермент – 3-кетотіолаза (PhaA) – каталізує конденсацію двох молекул ацетил-КоА з утворенням ацетоацетил-КоА. Фермент ацетоацетил-КоА-редуктаза (PhaB) відновлює ацетоацетил-КоА до (R)-3-гідроксибутирил-КоА з використанням NADPH. Фермент ПГА-синтаза (PhaC) каталізує полімеризацію (R)-3-гідроксибутирил-КоА в ПГА. Залежно від субстратів і ферментів, ПГА можуть складатися з різних мономерів (Alvarez-Santullano et al, 2021):

- Коротколанцюгові мономери: 3-гідроксибутират, 3-гідроксивалерат.
- Довголанцюгові мономери: 3-гідроксиоктаноат, 3-гідроксидекааноат.

У разі нестачі енергії клітина розщеплює ПГА, забезпечуючи вивільнення мономерів для метаболізму. Приблизно такий узагальнений механізм синтезу ПГА функціонує в бактеріальних клітинах (Alvarez-Santullano et al, 2021).

					НУХТ БТЕК 02.01.04 КР ПЗ						
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата							
Розроб.		Косовець І.Р.			РОЗДІЛ 1 БІОЛОГІЧНІ АГЕНТИ, ЩО СИНТЕЗУЮТЬ ПОЛІГІДРОКСИАЛКАНОАТИ						
Перевір.		Стабніков В.П.							Літ.	Арк.	Аркушів
Реценз.										11	122
Н. Контр.									Кафедра БТМ		
Затверд.		Стабніков В.П.									

Щодо бактеріальних продуцентів ПГА, сучасні дослідження спираються як на грампозитивні так і на грамнегативні бактерії. Більш детально можна ознайомитись в табл.1.1.

Тож, з табл.1.1. можна зробити висновок, що найчастіше прокаріоти синтезують ПГБ, при чому синтезувальна властивість деяких натуральних штамів (не змінених генетично) досягає чималих концентрація (найвища концентрація становила 11,46 г/л для *A. chroococcum* МТСС 3853).

1.2. Археї як потенційні продуценти ПГА

Археї, хоча й є прокаріотами, мають деякі унікальні характеристики в порівнянні з бактеріями, що дозволяє їм синтезувати ПГА в умовах, де інші мікроорганізми не можуть існувати. Археї здатні синтезувати ПГА, використовуючи різні механізми та шляхи, що відрізняються від бактерій (Obulisamy & Mehariya, 2021).

Археї здатні виживати в екстремальних умовах, таких як висока температура, високий рівень солі, сильне кислотне або лужне середовище. Це дозволяє їм використовувати широкі спектри субстратів, які не доступні іншим організмам. Багато архей є метаногенами організмами, що можуть синтезувати ПГА з різних джерел вуглецю, таких як метан, вуглекислий газ, органічні кислоти та інші органічні з'єднання. Археї мають унікальну мембранну структуру з різноманітними ліпідами, що робить їх стійкими до екстремальних умов. Це дозволяє їм працювати в умовах, де інші мікроорганізми не можуть (Obulisamy & Mehariya, 2021).

Першим етапом синтезу ПГА є утворення ацетил-КоА, ключового метаболіту для формування полімеру. У архей ацетил-КоА може утворюватися через кілька шляхів. Одним з них є метаболізм органічних кислот, таких як ацетат, або навіть пряме утворення ацетил-КоА з вуглекислого газу у метаногенних архей. Для отримання ацетил-КоА, ацетат або інші органічні

Бактеріальні продуценти ПГА

Бактеріальний штам	Тип ПГА	Склад поживного середовища, г/л	Параметри біосинтезу	Концентрація ПГА, г/л	Джерело
<i>Bacillus cereus</i> МССВ 281	ПГБВ	Пептон – 5, Дріжджовий екстракт – 1, Гліцерин – 40 Морська вода як основа	30°C, 24 год, рН 7,0, 250 об/хв, V _{O2} =2 л/хв	2,54 ± 0,07	(Mohandas et al, 2018)
		Пептон – 5, Дріжджовий екстракт – 1, Глюкоза – 20 Морська вода як основа	30°C, 24 год, рН 7,0, 200 об/хв, V _{O2} =2 л/хв	1,16 ± 0,06	
<i>B. cereus</i> VIT-SSR1	ПГБ	М'яса – 36, (NH ₄) ₂ SO ₄ – 2,5, Na ₂ HPO ₄ - 4,8, KH ₂ PO ₄ - 4,4, MgSO ₄ ·7H ₂ O - 0,5, Мікроелементи (додається 1 мл розчину): CaCl ₂ ·2H ₂ O — 5 мг/л Амонійний цитрат заліза (III) — 50 мг/л	37°C, 48 год, рН 7,0, 120 об/хв	1,42 ± 0,01	(Evangeline & Sridharan, 2019)
<i>B. aryabhatai</i> PHB10		Пептон — 1,5, Екстракт дріжджів — 1,5, Na ₂ HPO ₄ — 1, MgSO ₄ ·7H ₂ O — 0,2, Глюкоза - 20	31°C, 48 год, рН 7,2, 150 об/хв	3,264	(Pillai, Kumar, Thulasi & Kumarapillai, 2017)

<i>B. aryabhatai</i> PHB10	ПГБ	Теж саме, але замість глюкози - фруктоза	31°C,	2,181	(Pillai, Kumar, Thulasi & Kumarapillai, 2017)
		Теж саме, але замість глюкози - мальтоза	48 год,	1,47	
		Теж саме, але замість глюкози - гліцерин	pH 7,2,	1,786	
		Теж саме, але замість глюкози - крохмаль	150 об/хв	1,742	
<i>B. megaterium</i> PHB29			34°C, 48 год, pH 7,2	2,25	(Aneesh, Kumar, Kavitha & Harikrishnan, 2016)
<i>B. megaterium</i> ALA2		Редукуючі цукри (з гідролізату <i>Chlorella</i>) — 20, Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O — 9, KH ₂ PO ₄ — 0,5, (NH ₄) ₂ SO ₄ — 1, MgSO ₄ ·7H ₂ O — 1, CaCl ₂ ·2H ₂ O — 0,02, NaCl — 10, Розчин мікроелементів розчиненого в 1 N HCl — 2 мл (г/л): ZnCl ₂ ·7H ₂ O — 0,44, FeSO ₄ ·7H ₂ O — 4,98, CuSO ₄ ·5H ₂ O — 0,78, MnSO ₄ ·4H ₂ O — 0,81, Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O — 0,24,	30°C, 72 год, 200 об/хв	0,84 ± 0,06	(Khomlaem, Aloui & Kim, 2021)
<i>C. necator</i> КСТС 2649 (в середовищі не використовується NaCl)		30°C, 120 год, 200 об/хв	7,51 ± 0,20		
<i>Pseudomonas</i> sp. PAMC 28620	ПГА середньої довжини ланцюга	Гліцерин — 30,0, Екстракт дріжджів — 3,0, K ₂ HPO ₄ — 5,0, KH ₂ PO ₄ — 3,0, MgSO ₄ ·7H ₂ O (100 мМ) — 10 мл Розчин мікроелементів — 1 мл/л (г/л): MnSO ₄ ·4H ₂ O — 0,86 ZnSO ₄ ·7H ₂ O — 0,2 CoSO ₄ ·7H ₂ O — 0,28 CuSO ₄ ·5H ₂ O — 0,25 FeSO ₄ ·7H ₂ O — 3,6 Розчинено в 0,1 N HCl	25 °C, 144 год, 150 об/хв, pH 7,2, pO ₂ =100%, V _{O2} =1 л/хв	4,15	(Sathiyarayanan et al, 2017)

Закінчення табл.1.1.

<i>P. aeruginosa</i> EO1	ПГА середньої довжини ланцюга	Арахісове масло – 20, K_2HPO_4 — 1,5 Na_2HPO_4 — 3,57, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,2 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ — 1 Розчин мікроелементів — 1 мл(г/л): $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ — 0,86, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,2, $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,28 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ — 0,25 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 3,6 Розчинено в 0,1 N HCl.	35 °С, 72 год, 150 об/хв, pH 7,0	6,13	(Mahato, Kumar, & Singh, 2021)
<i>A. vinelandii</i> N-15	ПГБ	Меляса — 50, Пептон – 10 CaCO_3 – 2, MgSO_4 — 0,200 K_2HPO_4 — 0,800, K_2HPO_4 — 0,200 CaSO_4 — 0,130 FeCl_3 — 0,00145 Na_2MoO_4 — 0,000253	30 °С, 48 год, 220 об/хв, pH 7,5	2,1	(Semeniuk et al, 2020)
<i>A. chroococcum</i> MTCC 3853		Гідролізат шкарлупи арахісу – 30, Пептон – 1,5, NH_4Cl – 1,5, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 1,5, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ — 1,0 K_2HPO_4 — 1,5, NH_4Cl — 0,5 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,5 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ — 0,05 Fe(III) NH_4 -цитрат — 1,2 мг	30 °С, 48 год, 150 об/хв, pH 7,0	11,46	(Nagajothi & Murugesan, 2023)
<i>Azotobacter</i> sp. E3		Кукурудзяна олія – 30, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ — 0,45 Na_2HPO_4 — 3,42 K_2HPO_4 — 2,38 MgSO_4 — 0,4	30 °С, 48 год, 150 об/хв	4,8	(Gatea et al, 2019)

кислоти, метаболізуються за допомогою спеціальних ферментів, таких як ацетил-КоА-синтаза. У метаногенних археях це може відбуватися через використання ацетату, який перетворюється в ацетил-КоА через ацетил-КоА-синтазу. Також, в умовах, де органічні кислоти недоступні, археї можуть синтезувати ацетил-КоА з вуглекислого газу за допомогою спеціальних ферментів (Obulisamy & Mehariya, 2021).

Після утворення ацетил-КоА, наступним етапом є його конденсація з іншою молекулою ацетил-КоА, що каталізується ферментом 3-кетотіолазою. Цей фермент каталізує утворення ацетоацетил-КоА, що є проміжним продуктом у процесі синтезу ПГА. Цей етап має велике значення, оскільки забезпечує основну "будівельну блок" для подальшого синтезу полімеру. Ацетоацетил-КоА є ключовим проміжним, що визначає, який тип ПГА буде утворюватися, оскільки цей продукт може потім бути відновлений до різних форм 3-гідроксибутирату, основного мономера ПГА (Obulisamy & Mehariya, 2021).

Після конденсації ацетил-КоА в ацетоацетил-КоА, наступний етап полягає у відновленні ацетоацетил-КоА до 3-гідроксибутирату. Це відновлення каталізується ферментом ацетоацетил-КоА-редуктазою, який використовує NADPH як відновлювальний агент. У результаті цього етапу утворюється (R)-3-гідроксибутират, що є основним мономером для синтезу ПГБ, найпоширенішого виду ПГА (Obulisamy & Mehariya, 2021).

Останнім етапом є полімеризація 3-гідроксибутирату в ПГА, що каталізується ферментом ПГА-синтазою. Цей фермент додає молекули 3-гідроксибутирату до зростаючого полімерного ланцюга, видаляючи молекули КоА. Цей процес відбувається через утворення зв'язків між молекулами 3-гідроксибутирату, що призводить до утворення довгих полімерних ланцюгів, які є полігідроксибутиратом. У результаті цього процесу археї накопичують ПГА як резервний полімер для використання у майбутньому, особливо в умовах обмеження вуглецю чи інших ресурсів (Obulisamy & Mehariya, 2021).

Найбільш відомими архейними продуцентами ПГА, яким присвячені сучасні дослідження є штами архей *H. mediterranei*. Більш детально досліджено штам DSM 1411. З синтезувальною активністю *H. mediterranei* можна ознайомитись в табл.1.2 (див.нижче).

Тож, з табл.1.2. можна зробити висновок про залежність архей як продуцентів ПГА щодо поживного середовища, оскільки один і той самий штам при різних умовах культивування може синтезувати різну концентрацію полімерів.

1.3. Ціанобактерії як продуценти ПГА

Ціанобактерії – це фотосинтезуючі прокаріотичні організми, здатні виробляти ПГА як запасний полімер енергії та вуглецю. Вони отримують енергію від сонячного світла та використовують вуглекислий газ як основне джерело вуглецю, що робить їх унікальними у виробництві ПГА. Біосинтез ПГА у ціанобактеріях є важливим метаболічним процесом, який забезпечує виживання організмів у стресових умовах, таких як обмеження поживних речовин або несприятливі зміни навколишнього середовища (Price, S., Kuzhiumparambil, Pernice & Ralph, 2020).

Механізм синтезу ПГА для ціанобактерій подібний до звичайних бактерій, хоча більшість штамів розщеплюють ростовий субстрат через пентозофосфатний шлях (Mendhulkar & Shetye, 2017). Ціанобактерії мають декілька переваг для синтезу ПГА. По-перше, вони є автотрофами, що дозволяє їм використовувати дешевий і відновлюваний ресурс – вуглекислий газ. По-друге, фотосинтез забезпечує постійний потік енергії у вигляді світла, що знижує енергетичні витрати на виробництво. По-третє, ціанобактерії можуть адаптуватися до широкого спектра умов навколишнього середовища, що робить їх перспективними для промислового використання (Price, S., Kuzhiumparambil, Pernice & Ralph, 2020).

Синтезувальна здатність штамів архей щодо ПГА

Штам архей	Тип ПГА	Склад поживного середовища, г/л	Параметри біосинтезу	Концентрація ПГА, г/л	Джерело
<i>H. mediterranei</i> DSM 1411	ПГБВ	NaCl — 150, MgCl ₂ ·6H ₂ O — 13, KCl — 4 CaCl ₂ ·2H ₂ O — 0,69, NH ₄ Fe(III)-цитрат — 0,063, MgSO ₄ ·7H ₂ O — 20, NaHCO ₃ — 0,25 KBr — 0,5, Дріжджовий екстракт — 1,08, NH ₄ Cl — 0,39, Глюкоза — 10 SL-6 розчин (1,25 мл): ZnSO ₄ ·7H ₂ O — 100 мг, H ₃ BO ₃ — 300 мг CoCl ₂ ·6H ₂ O — 200 мг, CuSO ₄ — 6 мг NiCl ₂ — 20 мг, Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O — 30 мг MnCl ₂ ·2H ₂ O — 25 мг	37 °C, 96 год, 230 об/хв	2,3 ± 0,02	(Alsafadi, Al-Mashaqbeh, Mansour & Alsaad, 2020)
		MgCl ₂ ·6H ₂ O — 13 NaCl — 156 MgSO ₄ ·7H ₂ O — 20 KCl — 4 CaCl ₂ ·6H ₂ O — 1 NaBr — 0,5 NaHCO ₃ — 0,2 Екстракт дріжджів — 5 Редукуючі цукри (з гідролізату <i>Chlorella</i>) — 20	42 °C, 120 год, 200 об/хв	3,79 ± 0,03	(Khomlaem, Aloui & Kim, 2021)
		Основа середовища – ретенат з молочного виробництва після нанофільтрації SL-6 розчин – 10 (див.вище), NaCl — 100	37 °C, 120 год, 500 об/хв, рН 7,0	1,27 ± 0,09	(Raho et al, 2020)
<i>H. mediterranei</i> (дикий штам)		Гідролізат біомаси <i>Ulva</i> sp. – 250, Пептон – 15, Морська вода з солоністю 3,7% до кінця об'єму	42 °C, 72 год, 180 об/хв	2,2 ± 0,12	(Ghosh et al, 2019)

Проте є і недоліки застосування ціанобактерій в промисловому виробництві ПГА біотехнологічним шляхом. Темпи росту ціанобактерій, як правило, є повільнішими порівняно з гетеротрофними мікроорганізмами. Крім того, для оптимального синтезу ПГА потрібно ретельно контролювати умови культивування, такі як інтенсивність світла, концентрація вуглекислого газу та доступність поживних речовин. Тим не менш, ціанобактерії залишаються перспективними організмами для біотехнологічного виробництва ПГА завдяки їхньому екологічному потенціалу та здатності працювати у відновлюваних системах (Price, S., Kuzhiumparambil, Pernice & Ralph, 2020).

Нерідко за допомогою ціанобактерій можна отримати кополімери ПГА, наприклад 3-ПГБ-ко-4-ПГБ (Tanweer, & Panda, 2020). Узагальнену схему біосинтезу показано на рис.1.1.

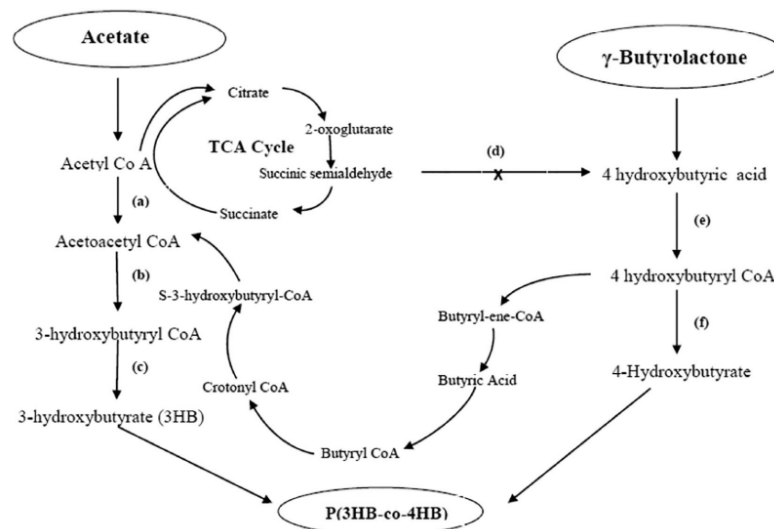


Рис.1.1. Узагальнена схема біосинтезу 3-ПГБ-ко-4-ПГБ в *Synechocystis* sp. PCC 6803 (Tanweer, & Panda, 2020)

Ферменти: (а) 3-кетотіолаза (b) NADPH-пов'язана ацетоацетил-КоА-редуктаза (с) РНА-синтаза (d) 4-гідроксибутиратдегідрогеназа (е) 4-гідроксибутирил-СоА трансфераза (f) ФГА-синтаза (Tanweer, & Panda, 2020).

Synechocystis sp. – один з найбільш вивчених організмів серед ціанобактерій для синтезу ПГА. Він здатен накопичувати ПГА при обмежених умовах азоту або фосфору. *Synechococcus* sp. – ще одна ціанобактерія, яка

показує високу здатність до синтезу ПГА у вигляді гранул, зокрема при обмеженій кількості азоту. *Spirulina platensis* – хоча в основному відома як джерело білка та харчових добавок, ця ціанобактерія також здатна накопичувати ПГА у відповідь на стресові фактори, такі як дефіцит поживних речовин (Price, S., Kuzhiumparambil, Pernice & Ralph, 2020). Більш детально про синтезувальну здатність ціанобактерій щодо ПГА висвітлено в табл.1.3. (див. нижче).

Тож, спираючись на всю наведену інформацію можна зробити висновок, що все ж таки ціанобактерії не є найкращими продуцентами ПГА. Також, ускладнює технологію як культивування самих мікроводоростей, так і виділення ПГА з самої біомаси.

1.4. Застосування рекомбінантних технологій для біосинтезу ПГА

Рекомбінантні технології для синтезу ПГА в мікроорганізмах використовують генно-модифіковані штами загалом бактерій, які здатні ефективно виробляти біополімери, такі як ПГБ. Суть цих технологій полягає у генетичній модифікації мікроорганізмів для покращення їх здатності до накопичення ПГА в умовах лабораторного чи промислового культивування (Bedade, Edson & Gross, 2021).

Для генетичної модифікації мікроорганізмів часто використовуються бактеріальні штами, які природно здатні синтезувати ПГА. За допомогою рекомбінантних технологій можна збільшити продуктивність мікроорганізмів шляхом впровадження додаткових генів або оптимізації вже існуючих метаболічних шляхів (Bedade, Edson & Gross, 2021).

Основні етапи модифікації (Bedade, Edson & Gross, 2021):

1. Внесення генів синтезу ПГА

Основні гени, що відповідають за синтез ПГА, включають:

PhaA — ацетоацетил-КоА-тіолаза, яка перетворює ацетил-КоА в ацетоацетил-КоА.

Синтезувальна здатність штамів ціанобактерій щодо ПГА

Штам ціанобактерій	Тип ПГА	Склад поживного середовища, г/л	Параметри біосинтезу	Концентрація ПГА, мг/л	Джерело
<i>Synechococcus elongates</i>	Тип не вказано	Сахароза – 10, NaCl — 25, MgSO ₄ — 3,5, K ₂ HPO ₄ — 0,0263, MgCl ₂ ·2H ₂ O — 2, CaCl ₂ ·2H ₂ O — 0,5, KCl — 0,5, Na ₂ CO ₃ — 0,02, Лимонна кислота — 0,003, FeNH ₄ (III)-цитрат — 0,003, Mg-EDTA — 0,0005, Вітамін B ₁₂ — 0,00001 H ₃ BO ₃ — 0,00286, MnCl ₂ ·4H ₂ O — 0,00181, Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O — 0,000252, ZnSO ₄ ·7H ₂ O — 0,000222, CuSO ₄ ·7H ₂ O — 0,000079	24 °С, 15 діб, освітлення холодним білим флуоресцентним світлом і циклом світло/темрява 14/10 годин	171,51	(Mendhulkar & Shetye, 2017)
<i>Synechocystis sp.</i> PCC 6803	3-ПГБ-ко-4-ПГБ	Ацетат – 4, γ-Бутиролактон – 0,1, CaCl ₂ ·2H ₂ O — 0.036, FeNH ₄ (III)-цитрат — 0.012, EDTA·Na ₂ ·2H ₂ O — 0.001, MgSO ₄ ·7H ₂ O — 0.075, Na ₂ CO ₃ — 0.02 Розчин мікроелементів — 1 мл/л (г/л): H ₃ BO ₃ — 2.86, MnCl ₂ ·4H ₂ O — 1.81, ZnSO ₄ ·7H ₂ O — 0.222, Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O — 0.39, CuSO ₄ ·5H ₂ O — 0.079 Co(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O — 0.049	27 °С, 7 діб, освітлення люмінесцентними лампами при інтенсивності світла 75 мкмоль фотон/м ² /с та фотоперіод 14:10 год.	46,27 ± 0,73	(Tanweer, & Panda, 2020)
<i>Synechocystis cf. salina</i> Wislouch CCALA 192	ПГБ	NaNO ₃ — 1.5 CaCl ₂ ·2H ₂ O — 0.036 FeNH ₄ (III)-цитрат — 0.012 EDTA·Na ₂ ·2H ₂ O — 0.001 K ₂ HPO ₄ — 0.04 MgSO ₄ ·7H ₂ O — 0.075 Na ₂ CO ₃ — 0.02 Розчин мікроелементів — 1 мл/л (склад див.вище в <i>Synechocystis sp.</i> PCC 6803)	20 °С, 21 діб, день: нічний цикл 16:8 годин і середня освітленість 9-12 Вт/м ²	130	(Kovalcik et al, 2017)

Закінчення табл.1.3

<i>Arthrospira (Spirulina) platensis</i>	Тип не вказано	Очищений гліцерин – 6,14, NaHCO ₃ — 13.61, Na ₂ CO ₃ — 4.03, K ₂ HPO ₄ — 0.5 NaNO ₃ — 2.5, K ₂ SO ₄ — 1.0, NaCl — 1.0 MgSO ₄ ·7H ₂ O — 0.2, EDTA — 0.08, FeSO ₄ ·7H ₂ O — 0.01, CaCl ₂ ·2H ₂ O — 0.04 Розчин мікроелементів (г/л) - 5: ZnSO ₄ ·7H ₂ O — 0.001, CuSO ₄ ·5H ₂ O — 0.000005, H ₃ BO ₃ — 0.01, Co(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O — 0.001, Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O — 0.001, MnSO ₄ ·4H ₂ O — 0.002, FeSO ₄ ·7H ₂ O — 0.7 EDTA — 0.8	25 °С, 7 діб, освітлення люмінесцентними лампами при інтенсивності світла 124 мкмоль фотон/м ² /с та фотоперіод 14:10 год.	18,5	(Corrêa & Teixeira, 2021)
<i>A. platensis</i> NLHT3	ПГБ	Пропіонат натрію – 9, NaHCO ₃ — 13.61, Na ₂ CO ₃ — 4.03, K ₂ HPO ₄ — 0.5, NaNO ₃ — 2.5, K ₂ SO ₄ — 1.0, NaCl — 1.0, MgSO ₄ ·7H ₂ O — 0.2, EDTA — 0.08, FeSO ₄ ·7H ₂ O — 0.01 CaCl ₂ ·2H ₂ O — 0.04, Розчин мікроелементів (г/л) - 5: ZnSO ₄ ·7H ₂ O — 0.001, CuSO ₄ ·5H ₂ O — 0.000005, H ₃ BO ₃ — 0.01, Co(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O — 0.001, Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O — 0.001, MnSO ₄ ·4H ₂ O — 0.002, FeSO ₄ ·7H ₂ O — 0.7 EDTA — 0.8	25 °С, 15 діб, середня освітленість 12 КВт/м ² та фотоперіод 16:8 год.	381	(Nguyen et al, 2024)
<i>Spirulina</i> sp. LEB 18		Відходи видобутку ПГБ – 250, NaHCO ₃ — 13.61, Na ₂ CO ₃ — 4.03, K ₂ HPO ₄ — 0.5, NaNO ₃ — 2.5, K ₂ SO ₄ — 1.0, NaCl — 1.0, MgSO ₄ ·7H ₂ O — 0.2, EDTA — 0.08, FeSO ₄ ·7H ₂ O — 0.01, CaCl ₂ ·2H ₂ O — 0.04 Розчин мікроелементів (г/л) - 5: ZnSO ₄ ·7H ₂ O — 0.001, CuSO ₄ ·5H ₂ O — 0.000005, H ₃ BO ₃ — 0.01, Co(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O — 0.001, Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O — 0.001 MnSO ₄ ·4H ₂ O — 0.002 FeSO ₄ ·7H ₂ O — 0.7 EDTA — 0.8	30 °С, 20 діб, Освітлення люмінесцентними лампами при інтенсивності світла 75 мкмоль фотон/м ² /с та фотоперіод 12:12 год.	70	(da Silva, Costa & de Morais, 2018)

PhaB — ацетоацетил-КоА-редуктаза, яка перетворює ацетоацетил-КоА в 3-гідроксибутират.

PhaC — фермент полімеризації 3-гідроксибутирату, який утворює полімер.

Ці гени можуть бути інтегровані у геном мікроорганізмів, таких як *Escherichia coli*, *C. necator* або *Pseudomonas* sp., щоб покращити їх здатність до виробництва ПГА.

2. Оптимізація метаболічних шляхів

Після введення генів синтезу ПГА, необхідно також оптимізувати метаболічні шляхи мікроорганізму для підвищення виходу ПГА. Наприклад, можна модифікувати шляхи, що призводять до утворення ацетил-КоА, оскільки він є основним вихідним матеріалом для синтезу ПГА. Для цього можна збільшити активність ферментів, що забезпечують утворення ацетил-КоА.

3. Зменшення конкурентних шляхів

Для ефективного використання метаболітів, необхідних для синтезу ПГА, можна блокувати конкуренцію з іншими метаболічними шляхами, які також використовують ацетил-КоА або інші важливі метаболіти. Це дозволяє збільшити кількість ресурсів для синтезу ПГА.

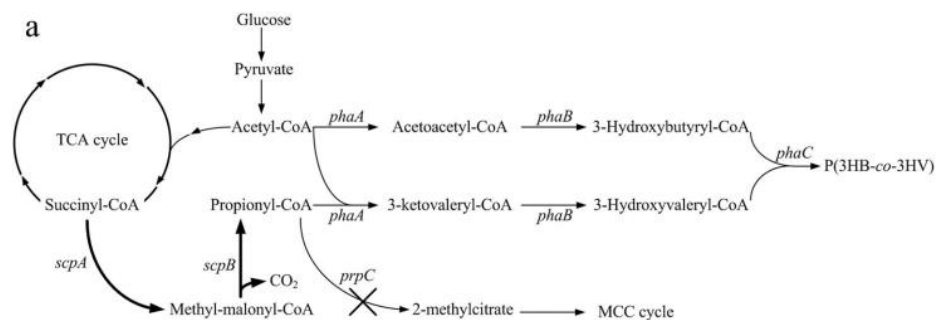


Рис.1.2. Приклад рекомбінантних технологій щодо зменшення конкурентних шляхів синтезу для підвищення синтезу ПГА (Yin et al, 2015)

В табл.1.4. показано декілька прикладів застосування рекомбінантних технологій для одержання ПГА.

Рекомбінантні штами для синтезу ПГА

Штам	Модифікація	Склад поживного середовища, г/л	Параметри синтезу	Тип та концентрація ПГА	Джерело
<i>Pseudomonas</i> sp. 61-3 (<i>phbC::tet</i>)	містить додаткові копії гена <i>phaC1</i>	Глюкоза – 20, Гідролізат пропареної стічної води сої – 50, Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O — 0.9 KH ₂ PO ₄ — 0.15 MgSO ₄ ·7H ₂ O — 0.02 Розчин мікроелементів — 0.1 мл (г/л): FeCl ₃ — 9.7, CaCl ₂ — 7.8 CoCl ₂ ·6H ₂ O — 0.218 CuSO ₄ ·5H ₂ O — 0.156 NiCl ₂ ·6H ₂ O — 0.118 CrCl ₃ ·6H ₂ O — 0.105	28 °С, 48 год, 130 об/хв	3-ПГБ-ко-3-ПГА 1 г/л	(Hokamura, Yunoue, Goto & Matsusaki, 2017)
<i>P. chlororaphis</i> HT4Δ:: <i>C1C2J</i>	містить копії <i>phaC1</i> , <i>phaC2</i> і <i>phaJ</i> (еноіл-КоА гідратаза)	Гліцерол — 18.9 Триптон — 20 MgSO ₄ — 0.732 K ₂ HPO ₄ ·3H ₂ O — 0.673 Глюкоза — 20 Додеканової кислоти — 5 Ампіцилін — 100 мг/л Канаміцин — 50 мг/л IPTG — 0.8 мМ	28 °С, 48 год, 200 об/хв	ПГДД, 15,5 г/л	(Li et al, 2021)
<i>C. necator</i> H16/pMPJAS03	містить копії <i>fadE</i> (ацил-КоА дегідрогеназа) та <i>phaJ</i>	Дріжджовий екстракт – 5, Пептон – 10, NaCl – 5, Конопляна олія – 30, Арабіноза - 1 NH ₄ SO ₄ — 3.57 NaH ₂ PO ₄ ·12H ₂ O — 5.66 KH ₂ PO ₄ — 1.5 MgSO ₄ ·7H ₂ O — 0.2 г CaCl ₂ ·2H ₂ O — 10 мг FeSO ₄ ·7H ₂ O — 20 мг Розчин мікроелементів — 1 мл: (г/л у розчині HCl 0.1N): H ₃ BO ₃ — 0.3 CoCl ₂ ·6H ₂ O — 0.2 ZnSO ₄ ·7H ₂ O — 0.1 MnCl ₂ ·4H ₂ O — 30 мг Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O — 30 мг NiCl ₂ ·6H ₂ O — 20 мг CuSO ₄ ·5H ₂ O — 10 мг	30 °С, 26 год, 200 об/хв	ПГБ, 4,18 г/л	(Flores-Sánchez et al, 2020)

Продовження табл.1.4.

<p><i>C. necator</i> MF01/pBPP- ccr_{Me}J_{Ac}-emd</p>	<p>Містить копії <i>phaA</i>, <i>bktB</i> (β-кетотіолаза); , <i>phaC</i>, <i>phaC</i> <i>NSDG</i> (PHA-синтаза) <i>ccr Me</i> (кротоніл-КоА-карбоксілази/редуктази) <i>emd Mm</i> (етилмалоніл-КоА-декарбоксілаза) <i>phaJ Ac</i> , (R)-2-еноіл-СоА-гідратаза)</p>	<p>Пальмоядрова олія – 15, (підживлення до постійного рівня 5 г/л до 24 годин, а після - до 10 г/л до кінця культивування) (NH₄)₂SO₄ – 3, MgSO₄·7H₂O - 0,1, KH₂PO₄ - 0,1, Na₂HPO₄ – 0,8, NaHCO₃ – 1, Розчин мікроелементів - 0,1 мл (г/л): FeCl₃ - 9,7, CaCl₂ - 7,8, CoCl₂·6H₂O - 0,218, NiCl₃·6H₂O - 0,118, CrCl₃·6H₂O - 0,105, CuSO₄·5H₂O 0,156</p>	<p>30 °С, 0,6 об/об/хв рН 7,0 (3 М КОН або 14% р-н аміачної води) 300-650 об/хв 96 год</p>	<p>РНВННх, 85,2 ± 0,62</p>	<p>(Tanaka, Orita, & Fukui, 2025)</p>
<p><i>Halomonas</i> TD08</p>	<p>Заблоковано копії <i>prpC</i> (2-метил-цитрат-синтаза) та 3 копії <i>phaZ</i></p>	<p>NaCl — 60, Глюкоза — 30, Дріжджовий екстракт — 0.5, NH₄Cl — 1, MgSO₄ — 0.2, Na₂HPO₄·12H₂O — 9.65, KH₂PO₄ — 1.50 г/л, Хлорамфенікол – 25 мг/л Розчин мікроелементів I — 10 мл/л (г/л): Fe(III)-NH₄-цитрат — 5 CaCl₂ — 2 HCl 0.5 M — 0.5 M Розчин мікроелементів II — 1 мл/л (мг/л): ZnSO₄·7H₂O — 100 MnCl₂·4H₂O — 30 H₃BO₃ — 300 CoCl₂·6H₂O — 200 CuSO₄·5H₂O — 10 NiCl₂·6H₂O — 20 NaMoO₄·2H₂O — 30 HCl 0.5 M — 0.5 M</p>	<p>37 °С, 72 год, 200 об/хв рН 8,5</p>	<p>ПГБВ, 31,76 г/л</p>	<p>(Yin et al, 2015)</p>
<p><i>E. coli</i> Ka16CABloxp</p>	<p>Містить 11 копій <i>phaCAB</i></p>	<p>Дріжджовий екстракт – 5, Пептон – 10, NaCl – 5, Глюконат натрію – 20, Канаміцин – 800 мг/л</p>	<p>37 °С, 48 год, 200 об/хв</p>	<p>ПГБ, 1,36 г/л</p>	

Закінчення табл.1.4.

<i>Ralstonia eutropha</i> NCIMB11599 з плазмідною рKM212-SacC	містить копії <i>sacC</i> (β -фруктофуранозидаза)	Оброблена меляса – 58 KН ₂ РO ₄ — 6.67 (NH ₄) ₂ НРO ₄ — 4 MgSO ₄ ·7H ₂ O — 0.8 Лимонна кислота — 0.8 Розчин мікроелементів — 5 мл (г/л у 0.5 М HCl): FeSO ₄ ·7H ₂ O — 10 CaCl ₂ — 2 ZnSO ₄ ·7H ₂ O — 2.2 MnSO ₄ ·4H ₂ O — 0.5 CuSO ₄ ·5H ₂ O — 1 (NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O — 0.1 Na ₂ B ₄ O ₇ ·10H ₂ O — 0.02 Канаміцин – 300 мг/л	30 °С, 36 год, 100-200 об/хв, рН 6,9	ПГБ, 16,8 г/л	(Jo et al, 2021)
---	--	---	--	---------------	------------------

Тож, використання рекомбінантних технологій дозволяє «адаптувати» рекомбінантні штами до специфічних субстратів для синтезу ПГА, а також може збільшувати концентрацію ПГА (наприклад, 31,76 г/л ПГБВ шляхом культивування *Halomonas* TD08 або $85,2 \pm 0,62$ г/л РНВННх).

Підсумовуючи вищенаведену інформацію з табл.1.1-1.4 можна зробити висновок, що найкращими потенційними продуцентами ПГА є звичайні бактерії та рекомбінантні штами, тому при подальшому розгляді вибору біологічного агенту варто звертати увагу саме на ці біологічні агенти.

РОЗДІЛ 2

РОСЛИННА СИРОВИНА ТА МЕТОДИ ЇЇ ПІДГОТОВКИ ДЛЯ БІОСИНТЕЗУ ПОЛІГІДРОКСИАЛКАНОАТІВ

Рослинна сировина для біосинтезу ПГА включає в себе різноманітні лігноцелюлозні матеріали, які складаються з целюлози, геміцелюлози та лігніну. Вони являють собою основні компоненти клітинних стінок рослин і є найбільшими джерелами органічної маси. Однак для їх використання в біосинтетичних процесах необхідно здійснити попереднє розщеплення складних полімерів, щоб забезпечити доступність простих цукрів, таких як глюкоза, ксилоза та арабіноза, які використовуються мікроорганізмами для синтезу ПГА (Vigneswari et al, 2021).

Ці складні полісахариди є погано доступними для більшості мікроорганізмів у їхній первісній формі, тому рослинна сировина потребує попередньої обробки для підвищення ефективності процесу біосинтезу (Vigneswari et al, 2021).

Основними методами підготовки рослинної сировини для біосинтезу ПГА є механічна обробка, кислотний, лужний та ферментативний гідроліз (Koller et al, 2010).

1. Механічна обробка

Спочатку рослинна сировина піддається механічному подрібненню, щоб збільшити поверхню та полегшити подальші процеси гідролізу. Це може включати подрібнення, дроблення або фрезерування матеріалу. Після цього сировина готова до подальшої хімічної або ферментативної обробки.

2. Кислотний гідроліз

Цей метод є одним із найпоширеніших для розщеплення лігноцелюлозної сировини. За допомогою кислот (зазвичай сірчаної кислоти) відбувається гідроліз полісахаридів до моносахаридів, таких як глюкоза, ксилоза

					<i>НУХТ БТЕК 02.01.04 КР ПЗ</i>			
<i>Змн.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розроб.</i>	<i>Косовець І.Р.</i>				<i>РОЗДІЛ 2 РОСЛИННА СИРОВИНА ТА МЕТОДИ ЇЇ ПІДГОТОВКИ ДЛЯ БІОСИНТЕЗУ ПОЛІГІДРОКСИАЛКАНОАТІВ</i>	<i>Лім.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Перевір.</i>	<i>Стабніков В.П.</i>						27	122
<i>Реценз.</i>						<i>Кафедра БТМ</i>		
<i>Н. Контр.</i>								
<i>Затверд.</i>	<i>Стабніков В.П.</i>							

та арабіноза. Кислотний гідроліз зазвичай потребує високих температур і тиску, а також спеціального обладнання для запобігання розкладу моносахаридів та утворення побічних токсичних продуктів.

3. Лужний гідроліз

Цей метод застосовується для зменшення вмісту лігніну та геміцелюлози в рослинній сировині. Лужний гідроліз дозволяє отримати більш чисті полісахариди, що забезпечують кращу доступність для мікроорганізмів. Відсутність кислот дозволяє знизити утворення побічних продуктів, що може бути корисним для наступного етапу біосинтезу.

4. Ферментативний гідроліз.

Метод передбачає використання ферментів, таких як целюлази та геміцелюлази, для розщеплення полісахаридів на моносахариди. Порівняно з кислотними і лужними методами, ферментативний гідроліз відбувається при помірних умовах температури та рН, що знижує ризик утворення токсичних побічних продуктів. Крім того, цей метод дозволяє зберегти більшу частину корисних компонентів сировини, таких як мінерали і вітаміни.

Гідролізати рослинної сировини є важливими джерелами моносахаридів, які служать субстратами для мікроорганізмів, здатних до біосинтезу ПГА. Зокрема, такі мікроорганізми, як *C. necator*, *P.putida*, *Rhodobacter sphaeroides* та інші, активно використовують моносахариди для утворення полімерів. Процес біосинтезу ПГА включає ферментацію гідролізатів, під час якої мікроорганізми використовують вуглеводи для побудови полімерної ланцюга, що в подальшому може бути використаний як матеріал для виробництва екологічно чистих продуктів.

В табл.2.1. показано можливість одержання ПГА за допомогою рослинних гідролізатів (див.нижче).

Використання рослинних гідролізатів з метою одержання ПГА

Біологічний агент	Сировина для гідролізату	Одержання гідролізату	Склад поживного середовища	Параметри синтезу	Тип та концентрація ПГА	Джерело
<i>P. chlororaphis</i> 555	ріпакова олія	До 100 мл 6 М NaOH додали 100 г олії. Суміш нагрівали до 60 °С протягом 1,5 год. Потім гідролізовану олію змішували з 200 мл 6 М HCl. Суміш декантували в ділительну воронку і фазу жирної кислоти відокремлювали від водної фази, що містить сіль і гліцерин. Фазу жирної кислоти промивали приблизно 10 об'ємів (1000 мл) дистильованої води.	Na ₂ HPO ₄ – 6,0 KH ₂ PO ₄ – 3,0 NH ₄ Cl – 1,0 NaCl – 0,5 MgSO ₄ ·7H ₂ O – 0,2 CaCl ₂ ·2H ₂ O – 0,01 FeSO ₄ ·7H ₂ O – 0,005 Гідролізат ріпакової олії (як підживлення) – 90	25 год, 30 °С, 250 об/хв	ПГА середньої довжини ланцюга, 13,26 г/л	(Walsh et al, 2015)
<i>C. necator</i> В-10646	Бульба топінамбура	Бульби (вологість 74%) подрібнювали, замочували у воді (1:7) при 80 °С на 4–5 год, доводячи Рн до 3 сірчаною кислотою. Після екстракції залишок промивали водою, яку об'єднували з екстрактом. Олігосахариди піддавали гідролізу при 60 °С протягом 3 год. У другій процедурі гідроліз і екстракція відбувалися одночасно, з частковим гідролізом клітковини. Кислотні гідролізати нейтралізували до Рн 6,5–7,0 і упарювали до половини об'єму.	Сечовина – 0,5 ε-капролактон -1, валеріанова кислоти – 2 основа середовища – гідролізат	55 год, 30 °С, рН 7,0	Кополімерні ПГА, 54,86 г/л	(Volova et al, 2021)

Продовження табл.2.1.

<i>C. necator</i> В-10646	Стебла, листки, топінамбура	Вегетативну біомасу (вологість 10–12%) подрібнювали до 0,1 мм. Перша процедура гідролізу повторювала процедуру для бульб. У другій процедурі біомасу (25 г) екстрагували гарячою водою (1:7, 80 °С, 5 год), фільтрували, промивали водою, яку об'єднували з екстрактом. Залишок біомаси гідролізували 1% H ₂ SO ₄ (1:7, 100 °С, 8 год, перемішування), фільтрували, промивали дистильованою водою, а гідролізат нейтралізували КОН до Рн 6,5–7,0.	Фруктоза – 5-10, Сечовина – 0,5 ε-капролактон -1, валеріанова кислоти – 2 основа середовища – гідролізат	55 год, 30 °С, Рн 7,0	Кополімерні ПГА, 34,16 г/л	(Volova et al, 2021)
<i>Burkholderia cepacia</i> CCM 2656	Відпрацьована кавова гуща	Відходи висушували (80 °С, 24 год), екстракцію кавової олії проводили н-гексаном. Для гідролізу геміцелюлози 15% SCG обробляли 1% H ₂ SO ₄ (90 хв, 121 °С). Після кислого гідролізу Рн доводили до 4,5 (10 М NaOH), а целюлозу розщеплювали ферментом Celluclast 1,5 L (0,5%, 50 °С, 150 об/хв, 24 год). Тверді залишки (30% SCG після екстракції олії) видаляли фільтрацією.	Гідролізат був середовищем	72 год, 30 °С, 180 об/хв	ПГБ, 2,69 г/л	(Obruca et al, 2014)
<i>R. eutropha</i> NCIMB11599	Рисові висівки	Приблизно 500 г рисових висівок замочували в 4,5 л деіонізованої води, автоклаували (121 °С, 1 год). Після охолодження додавали ферменти (α-амілаза, глюкоамілаза, інвертаза) та проводили оцукрювання (50 °С, Рн 5, 100 об/хв, 24 год). Отриманий гідролізат фільтрували ультрафільтрацією та зворотним осмосом для очищення й концентрації.	KH ₂ PO ₄ - 6.67, (NH ₄) ₂ HPO ₄ - 4.0, MgSO ₄ ·7H ₂ O – 0.8, Лимонна кислота – 0.8 Розчин мікроелементів: 5 мл/л (г/л, у 0.5 М HCl): FeSO ₄ ·7H ₂ O – 10.0, CaCl ₂ - 2.0, ZnSO ₄ ·7H ₂ O – 2.2 MnSO ₄ ·4H ₂ O – 0.5 CuSO ₄ ·5H ₂ O – 1.0 (NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O – 0.1 Na ₂ B ₄ O ₇ ·10H ₂ O – 0.02	72 год, 30 °С, 200-400 об/хв, Рн 6,8	ПГБ, 5,20±0,06 г/л	(Oh et al, 2015)

Закінчення табл.2.1.

<i>C. necator</i> DSMz 545	Лушпиння соєвих бобів	Було розроблено хімічну обробку SBH 2% NaOH (10% мас./об., 121 °С, 1 год). Після охолодження матеріал нейтралізували HCl, промивали дистильованою водою та фільтрували. Для оцукрювання лужної обробленої SBH використовували ферментний коктейль (целюлази, ксиланази, β-глюкозидаза) (Ph 4,5, 45 °С, 12–72 год, 100 об/хв). Ферментативний гідроліз проводили в орбітальній водяній бані або біореакторі (260 мл буфера, 1 л робочого об'єму).	(NH ₄) ₂ SO ₄ - 4,0 KH ₂ PO ₄ - 13.3 MgSO ₄ ·7H ₂ O – 1.2 Гліцерин – 10, Гідролізат лушпиння – 10 Дріжджовий екстракт – 1,0 Лимонна кислота – 1,7 Розчин мікроелементів: 10 мл/л (г/л): FeSO ₄ - 10,0 ZnSO ₄ - 2,25 CuSO ₄ - 1,0 CaCl ₂ - 2.0 Na ₂ B ₄ O ₇ - 0,23 MnSO ₄ - 0,5 (NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ - 0.1 HCl (35%) – 10 мл/л	96 год, 30 °С, 150 об/хв	ПГБ, 4,72 г/л	(Sarmiento-Vásquez, Vandenberghe, Karp & Soccol, 2022)
<i>P. putida</i> KT2440	Залишки кокосового горіха	Гідроліз проводили при 200 об/хв Ph 4.0 та 35 °С, деактивували ферменти (целюлази (0,01–0,2 г/г твердої речовини) та амілази (0,01–0,2 г/г твердої речовини)) на водяній бані, зразки центрифугували та зберігали при -20 °С.	Глюкоза – 20, NH ₄ Cl – 0,264, Основа середовища – гідролізат	72 год. 30 °С, 200 об/хв	ПГА середньої довжини ланцюга, 0,26 г/л	(Khamplod, Wongsirichot & Winterburn, 2023)

Тож, з табл.2.1. можна зробити висновок, що сучасні дослідження направлені на використання комбінованих методів одержання гідролізатів з рослинної сировини. Як показує практика, в деяких випадках, застосування такого дешевого аналогу дозволяє отримати високу концентрацію ПГА.

РОЗДІЛ 3

БІОТЕХНОЛОГІЧНЕ ОДЕРЖАННЯ

ПОЛІГІДРОКСИАЛКАНОАТІВ ТА ЇХ ПРАКТИЧНЕ ВИКОРИСТАННЯ

3.1. Виділення та очищення ПГА

Процес виділення та очищення ПГА має критичне значення для його подальшого використання в різних сферах, таких як медицина, упаковка, біорозкладні матеріали та електроніка. Основні причини важливості цього етапу (Jacquel et al, 2008):

- Забезпечення високої чистоти ПГА підвищує його фізико-механічні властивості та біосумісність.
- Оптимізація процесів виділення дозволяє знизити витрати на виробництво та підвищити вихід продукту.
- Використання екологічно чистих методів очищення зменшує негативний вплив на навколишнє середовище.

Тому, в табл.3.1. (див. нижче) було проаналізовано методики виділення та очищення які використовуються для різних продуцентів ПГА.

Проаналізувавши запропоновані методики можна зробити кілька важливих висновків:

- Інтермедіатні етапи - більшість методів включає використання хлороформу та розчину гіпохлориту натрію для лізису клітин, що дозволяє ефективно витягувати ПГА, оскільки ці хімічні речовини сприяють руйнуванню клітинної стінки і звільненню полімеру.

- Осадження полімеру - для осадження полімеру майже в усіх випадках застосовують метанол або етанол у якості осаджувачів, що сприяє кристалізації ПГА та видаленню розчинників та інших домішок.

- Методи очищення - процеси очищення включають кілька циклів осадження, розчинення у хлороформі, а також промивання етанолом чи

					<i>НУХТ БТЕК 02.01.04 КР ПЗ</i>			
<i>Змн.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розроб.</i>	<i>Косовець І.Р.</i>				<i>РОЗДІЛ 3</i> <i>БІОТЕХНОЛОГІЧНЕ</i> <i>ОДЕРЖАННЯ</i> <i>ПОЛІГІДРОКСИАЛКАНОАТІВ ТА</i> <i>ЇХ ПРАКТИЧНЕ ВИКОРИСТАННЯ</i>	<i>Лім.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Перевір.</i>	<i>Стабніков В.П.</i>						33	122
<i>Реценз.</i>						<i>Кафедра БТМ</i>		
<i>Н. Контр.</i>								
<i>Затверд.</i>	<i>Стабніков В.П.</i>							

Методики виділення та очищення ПГА для різноманітних продуцентів

Бактеріальний штам	Тип ПГА	Концентрація ПГА, г/л	Виділення та очищення ПГА	Джерело
Бактерії				
<i>B. cereus</i> MCCB 281	ПГБВ	2,54 ± 0,07	Для виділення полімеру до ліофілізованого осаду клітин додавали рівні об'єми хлороформу та розчину гіпохлориту натрію (4% доступного хлору). Суміш інкубували при температурі 30°C, швидкості 200 об/хв протягом 1 години, після чого центрифугували за 8000 g протягом 10 хвилин. Хлороформний шар (нижня фаза) збирали, а ПГА осаджували шляхом додавання 10-кратного об'єму 70% (об'єм/об'єм) охолодженого метанолу. Отриманий осад фільтрували та висушували при 70°C упродовж ночі.	(Mohandas et al, 2018)
		1,16 ± 0,06		
<i>B. cereus</i> VIT-SSR1	ПГБ	1,42 ± 0,01	До ліофілізованої біомаси клітин додавали рівні об'єми 30% гіпохлориту натрію та хлороформу. Суміш інкубували протягом 90 хвилин при постійному струшуванні. Після центрифугування утворювалися три шари, з яких нижній хлороформний шар, що містив ПГБ, підлягав подальшій обробці. Осадження ПГБ здійснювали додаванням 80% метанолу. Подальше очищення проводили, розчиняючи 1 мас.% ПГБ у хлороформі при температурі 60°C протягом 50 хвилин. Після цього хлороформний розчин повільно додавали до холодного етанолу в об'ємі, що перевищував об'єм хлороформу у 10 разів, забезпечуючи ретельне перемішування. Осад відокремлювали фільтрацією, промивали етанолом і висушували у вакуумі при 50°C.	(Evangeline & Sridharan, 2019)
<i>B. aryabhatai</i> PHB10	ПГБ	3,264	Клітинну масу суспендували у 20 мл розчину гіпохлориту натрію (5% мас./об. доступного хлору) та інкубували при температурі 45°C протягом 1 години. Лізат осаджували центрифугуванням при 8000×g протягом 2 хвилин, після чого послідовно промивали 20 мл стерильної дистильованої води, ацетону та абсолютного етанолу. Отриманий полімер розчиняли у 20 мл гарячого хлороформу і переносили для випаровування розчинника.	(Pillai, Kumar, Thulasi & Kumarapillai, 2017)
		2,181		
		1,47		
		1,786		
		1,742		
<i>B. megaterium</i> PHB29		2,25		(Aneesh, Kumar, Kavitha & Hari Krishnan, 2016)

Продовження табл.3.1.

<i>Pseudomonas</i> sp. PAMC 28620	ПГА середньої довжини ланцюга	4,15	1 г ліофілізованої біомаси інкубували у дисперсії, що містила 12% NaOCl та CHCl ₃ у співвідношенні 1:1 при температурі 37 °C протягом 12 годин з 200 об/хв. Після цього суміш центрифугували при 3500 g протягом 10 хв. Нижній шар представляв собою CHCl ₃ , що містив розчинений полімер РНА. Полімер осаджували додаванням 10 об'ємів охолодженого метилового спирту при постійному перемішуванні. Осаджений ПГА збирали центрифугуванням при 8000 g протягом 20 хв. Потім полімер очищали багаторазовим осадженням метанолом для видалення домішок. Полімер розчиняли в CHCl ₃ і обережно розподіляли на скляну чашку Петрі, де CHCl ₃ випаровувався при кімнатній температурі протягом 24 годин.	(Sathiyanaayan et al, 2017)
<i>P. aeruginosa</i> EO1	ПГА середньої довжини ланцюга	6,13	Культуральну рідину центрифугували при 8000 об/хв протягом 15 хвилин, що призвело до утворення осаду. Клітинний осад інкубували в гіпохлориті натрію (NaOCl) при температурі 50°C протягом 1 години. Для отримання клітинного екстракту, осад, що містить NaOCl (10 мл), центрифугували при 12000 об/хв протягом 30 хвилин після інкубації. Осад клітин послідовно промивали дистильованою водою для видалення розчинника, ацетоном для видалення низькомолекулярних ліпідів і абсолютним етанолом. Після цього промитий осад розчиняли в 10 мл CHCl ₃ і інкубували протягом ночі при 50°C, після чого сушили при кімнатній температурі.	(Mahato, Kumar, & Singh, 2021)
<i>A. vinelandii</i> N-15	ПГБ	2,1	З культурального бульйону клітини центрифугували при 6000 об/хв протягом 15 хв. Клітини двічі промивали розчином NaCl (0,9 мас. %) і центрифугували 15 хв. Осад збирали, сушили при 60 ° C до постійної маси та охолоджували до кімнатної температури. Щоб видалити полімер з біомаси, сухі клітини розщеплювали за допомогою ізопропанолу та ультразвуку (1 год, 30 °C). Після центрифугування (15 хв, 6000 об/хв) осад екстрагували протягом 5 циклів в апараті Сокслета хлороформом. Екстракцію проводили хлороформом у співвідношенні ПГБ:хлороформ 1:100 при температурі 35 °C при перемішуванні протягом 10 год. Розчинник випарювали у вакуумі до отримання твердого залишку. Отриманий осад відфільтровували (декантували), висушували і потім аналізували. Масу сухого полімеру визначали гравіметрично.	(Semeniuk et al, 2020)

Продовження табл.3.1.

<i>A. chroococcum</i> MTCC 3853	ПГБ	11,46	Ліофілізований осад клітин (4 г) змішували з 50 мл суміші, що складалася з рівних об'ємів розчину NaClO (30%, мас./об.) та CHCl ₃ , і інкубували при температурі 28 ± 2 °C протягом 2,5 години. Після інкубації суспензію центрифугували при 8000 g протягом 10 хвилин. Нижню хлороформну фазу, яка містила ПГБ, осаджували шляхом додавання потрібного об'єму холодного метанолу. Осаджений біополімер збирали центрифугуванням при 8000 g протягом 10 хвилин, після чого його ресуспендували в хлороформі для отримання високоочищеного біополімеру. Отриманий полімер ПГБ сушили на повітрі.	(Nagajothi & Murugesan, 2023)
<i>Azotobacter</i> sp. E3	ПГБ	4,8	Через 48 годин клітини збирали шляхом центрифугування при 10,000 g протягом 30 хвилин. Супернатант видаляли, а отриманий осад клітин висушували протягом 24 годин. Для екстракції висушені клітини інкубували в суміші, що містила 80% гіпохлориту натрію та хлороформ у співвідношенні 1:4,5, при 30°C і швидкості струшування 150 об/хв протягом 2 годин. Після інкубації суспензію центрифугували при 10,000 g протягом 20 хвилин. Верхній шар складався з водної фази гіпохлориту натрію, середній містив залишки клітин, а нижній — хлороформ із розчиненим ПГБ. Нижній шар хлороформу, що містив полімер, ретельно збирали та фільтрували. Концентрацію екстракту проводили шляхом випаровування хлороформу за допомогою ротормного вакуумного випарника.	(Gatea et al, 2019)
Археї				
<i>H. mediterranei</i> DSM 1411	ПГБВ	2,3 ± 0,02	Культуральний бульйон із клітинами збирали шляхом центрифугування (10 хв при 1957 × g). Осад клітин ресуспендували в дистильованій воді з додаванням 0,1% додецилсульфату натрію. Клітини руйнували за допомогою Vortex до отримання прозорого лізату, після чого суспензію інкубували протягом 3 год при 25 °C. Лізат знову центрифугували (15 хв при 6340 × g), після чого отримували чорну речовину. Цю речовину розчиняли в 3% розчині гіпохлориту натрію, інкубували 30 хв при 25 °C і знову центрифугували (15 хв при 6340 × g). Отриманий білий осад промивали водою та етанолом. Білий осад розчиняли в 10 мл хлороформу, після чого залишки нерозчинених домішок видаляли шляхом фільтрації. Наприкінці хлороформ випаровували, а очищений 3-ПГБВ збирали для подальшого використання.	(Alsafadi, Al-Mashaqbeh, Mansour & Alsaad, 2020)

Продовження табл.3.1.

<i>H. mediterranei</i> (дикий штам)	ГБВ	П 2,2 ± 0,12	Рідку культуру (100 мл) центрифугували при 2500 об/хв протягом 15 хв. Отриманий осад висушували в сушильній шафі при 60 °С протягом ночі. До висушеного осаду додавали 15 мл ацетону і залишали в холодильнику на ніч для видалення пігментів. Потім суспензію центрифугували (2500 об/хв, 15 хв) і повторно сушили при 60 °С для видалення залишків ацетону. Екстракцію ПГБВ здійснювали хлороформом при 37 °С протягом 24 годин за умов струшування зі швидкістю 100 об/хв.	(Ghosh et al, 2019)
<i>H. mediterranei</i> DSM 1411		1,27 ± 0,09	Клітини відокремлювали від рідкого середовища шляхом центрифугування (15 000 × g, 15 хв при 4 °С). Для запобігання лізису клітин осад промивали 10% мас./об. розчином NaCl і повторно центрифугували, щоб видалити залишки. Отриманий клітинний осад висушували при 60 °С протягом щонайменше 24 годин і зважували. Екстракцію ПГБВ проводили із сухої біомаси, ресуспендувавши її в деіонізованій воді (20 мл на грам сухої маси) для створення гіпоосмотичного шоку, що забезпечувало повний лізис клітин. Після цього суміш центрифугували (12 800 × g, 20 хв при 4 °С), видаляли супернатант і ресуспендували осад у розчині хлороформу та води (1:1 об./об.). Органічну фазу, що містила ПГБВ, відокремлювали і додатково очищували центрифугуванням (12 800 × g, 10 хв при 4 °С) для видалення залишкових домішок. Осад, який складався із сирого РНВВ, збирали та зважували.	(Raho et al, 2020)
Ціанобактерії				
<i>Synechococcus elongates</i>	Тип не вказано	171,51	Зібрані клітини (8000 об/хв, 10 хв) промивали дистильованою водою для видалення домішок. Потім клітини суспендували в метанолі та інкубували протягом ночі при 4 °С для видалення пігментів. Після інкубації клітини центрифугували, метанол зливали, а гранули клітин висушували при 60 °С. Далі клітини піддавали кільком етапам екстракції гарячим хлороформом. Отриманий РНА осаджували з хлороформного розчину в охолоджений метанол. Метанол відокремлювали від метанол-хлороформної суміші за допомогою ділильної лійки, а потім упарювали. Після випарювання розчинника РНА отримували у вигляді міцної напівпрозорої плівки.	(Mendhulkar & Shetye, 2017)

Продовження табл.3.1.

<i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803	3-ПГБ- ко-4- ПГБ	46,27 ± 0,73	Зібрані клітини (8000 об/хв, 10 хв) промивали дистильованою водою для видалення домішок. Пігменти видаляли шляхом суспендування клітин у метанолі при 4 °С протягом ночі. Після цього клітини центрифугували, осад промивали деіонізованою водою та сушили при 80 °С. Екстракцію полімеру проводили гарячим методом за допомогою хлороформу в апараті Сокслета протягом 5 годин. Отриманий у киплячому хлороформі полімер ізолювали шляхом випарювання розчинника.	(Tanweer, & Panda, 2020)
<i>Synechocystis</i> cf. <i>salina</i> Wislouch CCALA 192	ПГБ	130	Для екстракції полімеру біомасу попередньо очищали етанолом та ацетоном упродовж 1 години при кімнатній температурі в ультразвуковій ванні для видалення пігментів. РНА виділяли із висушеної біомаси методом Сокслета, використовуючи гарячий хлороформ, протягом 5 годин. Отриманий екстракт осаджували в охолодженому льодом етанолі (співвідношення 1:10, об'єм/об'єм) при перемішуванні. Полімер відокремлювали центрифугуванням, промивали етанолом та сушили при 60 °С до постійної маси.	(Kovalcik et al, 2017)
<i>A. (Spirulina)</i> <i>platensis</i>	Тип не вказано	18,5	2 г ліофілізованої біомаси промивали 300 мл дистильованої води. Після центрифугування при 4868×g осад ресуспендували в 30 мл натрію гіпохлориту (4-6%) та витримували при 45 °С протягом 20 хв. Потім проводили два цикли центрифугування та промивання водою. До попередньо обробленого розчину додавали 30 мл хлороформу та кип'ятять суміш з зворотним холодильником при 80 °С протягом 3 годин. Суміш фільтрували через мембрану зі скловолокна (пористість 0,7 мкм). Фільтрат після випаровування за допомогою роторного випарника ресуспендували в 8 мл хлороформу. РНА осаджували холодним метанолом, центрифугували при 4868×g протягом 20 хвилин та сушили при 40 °С до повного висихання.	(Corrêa & Teixeira, 2021)

Закінчення табл.3.1.

<i>A. platensis</i> NLHT3	ПГБ	381	Для екстракції ПГА культуральне середовище центрифугували та двічі промивали дистильованою водою для отримання біомаси. Біомасу розчиняли в 5% розчині NaClO та інкубували при 37 °С протягом 1 години. Після цього додавали 10 мл хлороформу і перемішували протягом 1 години. Зразок центрифугували при 7000 об/хв протягом 10 хвилин, а нижню фазу, що містить ПГА в хлороформі, переносили в чистий скляний флакон. Розчин випарювали до об'єму 2 мл і додавали холодний метанол у співвідношенні 1:4 (хлороформ/метанол). Суміш витримували при -20 °С протягом ночі для осадження ПГА. Потім розчин, що містить осаджений ПГА, центрифугували при 10000 об/хв протягом 10 хвилин. Супернатант відкидали, а РНА висушували до постійної ваги та зважували для визначення маси утвореного ПГА. Після випаровування розчинника ПГА отримували у вигляді напівпрозорої твердої плівки.	(Nguyen et al, 2024)
<i>Spirulina</i> sp. LEB 18		70	Біомасу мікроводоростей центрифугували при 3975×g протягом 20 хвилин. Після цього на кожен грам біомаси додавали 100 мл дистильованої води та 25 мл гіпохлориту натрію (10–12% активного хлору (мас./об.)) і перемішували протягом 10 хв. Отриману суспензію піддавали послідовним промиванням дистильованою водою і центрифугування (3975×g протягом 20 хв при кімнатній температурі). Цикл процесу повторюють, додаючи 50 мл ацетону. Кінцевий осад (неочищений біополімер) сушили в печі при 35 °С протягом 48 годин. Наприкінці кожного описаного етапу центрифугування утворені відходи зберігаються при –20 °С до використання в новій культурі. На кожен кілограм біомаси, що використовується під час екстракції, утворюється близько 200 л відходів. Екстрагований неочищений біополімер знежирювали протягом 2 годин у гексані при 60 °С при перемішуванні у випарнику. Пізніше його фільтрували під вакуумом і сушили в печі при 30 °С протягом 24 годин. Розчинником для очищення біополімеру був 1,2-пропіленкарбонат	(da Silva, Costa & de Morais, 2018)

ацетоном для видалення низькомолекулярних сполук. Це дозволяє досягти високого ступеня чистоти полімеру.

Температурні умови - більшість методів передбачають прогрівання розчинів або екстрактів при температурах від 30°C до 60°C для покращення процесів розчинення і осадження.

З табл.3.1. можна зробити узагальнену схему виділення та очистки ПГА яку ймовірно можна реалізувати в промислових умовах. Для промислових умов виділення та очищення ПГА можна застосувати багатоступеневий процес, що включає кілька ключових етапів: лізис клітин, екстракцію полімеру, осадження, очищення та концентрацію продукту. Цей процес має бути достатньо ефективним для великих обсягів біоматеріалу і здатним забезпечити високу чистоту кінцевого продукту при мінімальних витратах часу і ресурсів:

1. Висушування клітин для виділення ПГА

Першим етапом є підготовка клітинної біомаси, яка отримується після культивування мікроорганізмів або інших біологічних джерел. Клітини збирають шляхом центрифугування, зазвичай при високих швидкостях (10,000 g) протягом 30 хвилин, щоб зібрати осад, який містить біомасу. Після цього осад висушують протягом 24 годин для зниження вмісту вологи, що сприяє подальшій екстракції полімеру. Висушування клітин дозволяє ефективніше розкривати клітинні стінки та покращує екстракцію ПГА.

2. Лізис клітин та екстракція ПГА

Для лізису клітин використовують суміш хлороформу та гіпохлориту натрію (NaOCl), яка є ефективною для руйнування клітинних стінок і вивільнення ПГА. Зазвичай використовують 80% розчин гіпохлориту натрію, змішаний з хлороформом у співвідношенні 1:4,5. Цю суміш інкубують при температурі 30°C з помірним перемішуванням (150 об/хв) протягом 1,5–2 годин. Під час інкубації гіпохлорит натрію руйнує клітинну стінку, а хлороформ ефективно розчиняє полімер ПГА, що знаходиться в клітинах.

3. Поділ фаз та збір ПГА

Після інкубації суміш центрифугують для поділу на три фази: верхню водну фазу (що містить залишковий гіпохлорит натрію), середню фазу (залишки клітин) і нижню хлороформну фазу (що містить ПГА). Нижній хлороформний шар, в якому знаходиться розчинений ПГА, збирають для подальшої обробки. Зазвичай ця фаза має значну концентрацію полімеру, і для подальшого очищення її фільтрують, щоб видалити дрібні частки.

4. Концентрація та кристалізація ПГА для його очистки

Наступним етапом є концентрування розчину ПГА за допомогою роторного вакуумного випарника, що дозволяє випарувати хлороформ при зниженому тиску і зберегти термолабільність полімеру. Після випаровування розчинника отриманий концентрат полімеру осаджують, додаючи до нього холодний метанол або етанол. Це дозволяє кристалізувати ПГА, видаляючи розчинник і інші домішки, що можуть бути присутні в розчині.

5. Очищення та остаточне виділення ПГА

Осаджений полімер збирають за допомогою центрифугування або фільтрації, а потім промивають етанолом або ацетоном для додаткового очищення від низькомолекулярних речовин та органічних домішок. Після цього полімер висушують при низьких температурах (50–60°C) в умовах вакууму або на повітрі. Це забезпечує видалення залишкових розчинників і досягнення бажаної чистоти кінцевого продукту.

3.2. Практичне застосування ПГА

ПГА є класом біополімерів, які отримуються за допомогою біотехнологічних процесів, і здатні замінити традиційні пластикові матеріали, що мають великий вплив на навколишнє середовище через свою біорозкладність. Основні типи ПГА, які використовуються для виробництва біопластиків, мають різні хімічні структури, властивості і потенціал для різних промислових застосувань (Zhou et al, 2023).

ПГА мають значний потенціал у сільському господарстві, де їх застосування може суттєво покращити екологічність агропромислових процесів завдяки біорозкладності та екологічним властивостям. Ось кілька ключових напрямів застосування ПГА в сільському господарстві (Amelia et al, 2019):

Мульчування ґрунту — це процес покриття поверхні землі матеріалом, який зменшує випаровування вологи, пригнічує ріст бур'янів і підтримує стабільну температуру ґрунту. Зазвичай для цього використовуються пластикові плівки, однак їх основний недолік — це тривалий період розкладу в природі. Біорозкладні плівки, виготовлені з ПГА, можуть стати ефективною заміною, оскільки вони розкладаються в ґрунті, не забруднюючи навколишнє середовище (Mansoor et al, 2022).

Полігідроксibuтират і полігідроксипропіонат використовуються для виготовлення таких плівок, що дозволяє зменшити використання традиційних пластикових матеріалів і знизити їх вплив на екологію (Vanu et al, 2019).

ПГА плівки не потребують видалення після використання, оскільки вони розкладаються під дією мікроорганізмів у ґрунті. Це знижує трудовитрати і забруднення. ПГА можуть використовуватися для виготовлення упаковки для продуктів сільського господарства, таких як овочі, фрукти та інші харчові продукти. Біорозкладна упаковка допомагає знизити обсяг пластикових відходів, що утворюються в аграрному секторі (Acharjee et al, 2023).

Деякі види ПГА, такі як ПГБ, можуть використовуватися для виготовлення спеціальних гранул або матеріалів, які допомагають підтримувати вологість у ґрунті. Вони можуть бути розкидані по поверхні ґрунту, де зберігають вологу, що є важливим для підтримки оптимальних умов для росту рослин, особливо в посушливих регіонах. Цей метод зменшує потребу в додатковому поливі, що може бути особливо корисним у районах з обмеженим водопостачанням (Mansoor et al, 2022).

Використання ПГА для виготовлення трубок і систем поливу, які з часом розкладаються, є перспективним напрямом для сільського господарства. Це

дозволяє знизити кількість пластикових відходів, які зазвичай використовуються в аграрному секторі для систем поливу, що також є важливим аспектом сталого розвитку (Amelia et al, 2019).

В харчовій промисловості ПГА мають великий потенціал завдяки своїм екологічним властивостям, біорозкладності та безпечності для здоров'я людини. Використання ПГА в харчовій промисловості допомагає знизити негативний вплив на навколишнє середовище та зменшити залежність від синтетичних пластиків (Stublić, Ranilović, Ocelić Bulatović & Kučić Grgić, 2024).

Одним із найбільш перспективних напрямків є використання ПГА для виготовлення біорозкладної упаковки. Заміна традиційних пластикових упаковок, які не розкладаються протягом століть, на біорозкладні матеріали допомагає зменшити кількість пластикових відходів, що є важливим для екології. ПГБ та інші ПГА можуть використовуватися для виготовлення біорозкладних пакувальних плівок, контейнерів, пакувальних матеріалів для продуктів, таких як овочі, фрукти, кондитерські вироби, молочні продукти. ПГА упаковка розкладається під дією мікроорганізмів, знижуючи кількість пластикових відходів. Вона може бути виготовлена з відновлюваних ресурсів, таких як кукурудзяний крохмаль або інші біомаси (Cinelli et al, 2019).

ПГА можуть використовуватися для виготовлення упаковок для косметичних продуктів, таких як шампуні, лосьйони, які легко розкладаються після використання. ПГА можуть використовуватися для інкапсуляції активних інгредієнтів у косметичних продуктах, таких як вітаміни або антиоксиданти, що дозволяє контролювати їх вивільнення (Stublić, Ranilović, Ocelić Bulatović & Kučić Grgić, 2024).

ПГА використовуються для виготовлення біорозкладних волокон, які застосовуються в текстильній промисловості, наприклад, для виготовлення одягу та тканин. Також, вони можуть бути використані для створення біорозкладних пластикових компонентів автомобілів, таких як панелі та інші деталі (Acharjee et al, 2023).

Загалом, ПГА мають великий потенціал для заміни традиційних пластиків, забезпечуючи сталий розвиток у різних промислових сферах.

РОЗДІЛ 4

ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ

4.1. Характеристика полігидроксиалканоатів

Полігидроксиалканоати (ПГА, англ. polyhydroxyalkanoates, PHA) — це клас біополіестерів, які синтезуються мікроорганізмами як внутрішньоклітинні запасуючі речовини за умов надлишку вуглецевих джерел і дефіциту інших елементів, зокрема азоту чи фосфору. Хімічно вони є поліестерами гідроксикарбонових кислот, що мають загальну формулу $[-O-CHR-CH_2-CO-]_n$. Найпоширенішим представником є полігидроксибутират (PHB), проте існують і багато інших, зокрема кополімери, які мають кращі механічні та термічні властивості (Koller, Maršálek, de Sousa Dias, & Braunegg, 2017).

Полігидроксиалканоати являють собою клас полімерів, які відрізняються між собою за складом мономерних ланок, що істотно впливає на їх фізико-хімічні характеристики. До найпоширеніших представників належать (Koller, Maršálek, de Sousa Dias, & Braunegg, 2017):

- PHB – полігидроксибутират (гомополімер 3-гідроксибутирату),
- PHBV – кополімер 3-гідроксибутирату з 3-гідроксовалератом,
- PHBHHx – кополімер 3-гідроксибутирату з 3-гідрокси-гексаноатом.

Залежно від структури, ПГА демонструють різну крихкість, гнучкість, швидкість біорозкладу, а також оброблюваність. У таблиці нижче наведено порівняння основних представників за ключовими властивостями.

Таблиця 4.1.

Характеристика ПГА за різними фізико-біохімічними параметрами

Властивість	PHB	PHBV	PHBHHx
Хімічна структура	$[-O-CH(CH_3)-CH_2-CO-]_n$	PHB з включенням валератних груп	PHB з включенням гексаноатів
Температура плавлення, °C	170–180	145–175	115–140

					<i>НУХТ БТЕК 02.01.04 КР ПЗ</i>			
<i>Змн.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>	РОЗДІЛ 4 ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ	<i>Лім.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Розроб.</i>	<i>Косовець І.Р.</i>						45	122
<i>Перевір.</i>	<i>Стабніков В.П.</i>							
<i>Реценз.</i>								
<i>Н. Контр.</i>								
<i>Затверд.</i>	<i>Стабніков В.П.</i>					<i>Кафедра БТМ</i>		

Температура розкладу, °C	~280	~270	~240
Щільність, г/см ³	1.25–1.29	1.22–1.26	~1.20
Крихкість	Висока	Помірна	Низька, висока еластичність
Розтягуваність	Низька	Середня	Висока
Розчинність	У хлороформі, естерах	Аналогічна РНВ	Частково розчинний
Біорозкладність	Висока	Висока	Висока
Швидкість деградації у ґрунті	Повільна	Середня	Вища ніж у РНВ і РНВV
Вартість виробництва	Висока	Вища за РНВ	Ще вища
Застосування	Медичні імпланти, пакування	Плівки, капсули для агро, пакування	Агроплівки, м'які покриття, біомедицина

Примітка: таблицю складено автором з джерела (Mai et al., 2024)

Як видно з таблиці, найжорсткіший та термостійкий — РНВ, однак він має низьку гнучкість і легко тріскається. Саме тому в агро-технологіях частіше використовують кополімери, зокрема РНВV або РНВНх, які дозволяють виготовляти більш еластичні та механічно стійкі біорозкладні матеріали, що витримують вплив зовнішнього середовища (сонця, вологи, навантаження).

ПГА приваблюють значну увагу як екологічна альтернатива традиційним поліетиленам та поліпропіленам через їх біорозкладність, нетоксичність і походження з відновлюваної сировини. Їх перевагою є здатність до повного розкладання природними мікроорганізмами у ґрунті або воді, що особливо актуально в умовах зростаючого забруднення довкілля пластиковими відходами (Virov, 2013).

Практичне застосування:

1. Агро-технології

Особливо перспективним є використання ПГА в сільському господарстві, де вони застосовуються у вигляді (Amelia et al., 2019; Sehgal, & Gupta, 2020):

- Біорозкладних мульчуючих плівок — захищають ґрунт від пересихання, пригнічують ріст бур'янів, зменшують ерозію, а після

завершення сезону не потребують збирання, оскільки розкладаються без залишку в ґрунті.

- Капсул для контрольованого вивільнення добрив і засобів захисту рослин — ПГА використовують як матрицю для інкапсуляції пестицидів, гербіцидів та біостимуляторів, що забезпечує поступове вивільнення діючих речовин, знижує токсичне навантаження та підвищує ефективність препаратів.

- Гідрогелі та покриття для насіння — ПГА-покриття можуть містити корисні мікроорганізми (інокулянти), мікроелементи або стимулятори росту, забезпечуючи стартовий захист і покращення проростання.

- Субстрати для біодеградації — використовується для створення біоактивних плівок або гранул у технологіях фітореMediaції.

Застосування ПГА в агросекторі є надзвичайно доцільним, оскільки дозволяє поєднувати ефективність сучасних технологій з екологічною безпекою, зменшуючи накопичення мікропластику в ґрунтах, який впливає на мікробіоту та якість харчової продукції.

2. Медицина

У медицині ПГА використовують для створення біосумісних імплантів, швів, матриць для тканинної інженерії, носіїв ліків тощо. Їх біорозкладність та нетоксичність дозволяють безпечно використовувати такі матеріали всередині організму (Koller, 2018).

3. Пакування та одноразові вироби

ПГА активно використовуються у виробництві біорозкладних пакувальних матеріалів, включаючи пакети, контейнери для їжі, посуд. Це важливий крок до скорочення залежності від нафтохімічної пластмаси (Kusuma et al., 2024).

4. Електроніка та інженерія

ПГА-добути наноструктуровані матеріали мають потенціал у виготовленні біосенсорів, а також як компоненти гнучкої електроніки з коротким терміном служби (Yang, Liu, Cheng, & Wang, 2021).

Серед численних галузей, де полігідроксиалканоати (ПГА) демонструють високу ефективність, агро-технологічний сектор вирізняється надзвичайно широким потенціалом впровадження біополімерів. Це пояснюється одразу кількома ключовими факторами (Amelia et al., 2019; Sehgal, & Gupta, 2020):

1. Глобальний масштаб аграрного виробництва

Сільське господарство охоплює значні площі ґрунтів, де щороку використовуються мільйони тонн агроматеріалів — від плівок і сіток до добрив і засобів захисту рослин (ЗЗР). Впровадження біорозкладних матеріалів у цій сфері може мати масштабний позитивний екологічний ефект — у порівнянні, наприклад, з медициною чи пакуванням, де обсяг і тривалість контакту з довкіллям є обмеженими.

2. Актуальна проблема пластикового забруднення в агросекторі

Традиційні полімерні плівки, що використовуються для мульчування, після використання часто залишаються у ґрунті у вигляді мікро- та макропластику. Вони погіршують аерацію, водообіг, змінюють мікробіоту ґрунтів, і з часом призводять до зниження родючості. У багатьох країнах це вже стало критичною проблемою, яку можна вирішити лише через перехід на біорозкладні матеріали.

3. Мульчування — точка високого впливу при мінімальному втручанні

Серед усіх агротехнологічних застосувань ПГА (інкапсуляція добрив, біосенсори, інокулянти) мульчування ґрунту вирізняється високою площею охоплення, простотою впровадження та прямим впливом на врожайність. Ефекти мульчування охоплюють:

- збереження вологи,
- регуляцію температури ґрунту,

- зменшення росту бур'янів,
- захист поверхневого шару ґрунту від ерозії.

Коли замість традиційної поліетиленової плівки використовується біорозкладна ПГА-плівка, відпадає потреба в її збиранні, транспортуванні й утилізації, що не лише знижує витрати, а й покращує екологічний слід господарства.

4. Економічна та нормативна доцільність

У ЄС, Китаї, Японії та низці інших країн уже діють або готуються до впровадження заборони на використання не біорозкладних агроплівки, що відкриває великий ринок для інноваційних матеріалів на основі ПГА. У перспективі, така регуляція може охопити й країни Східної Європи та України.

5. Перевага над іншими агро-застосуваннями

У порівнянні з інкапсуляцією добрив або ЗЗР, що вимагають складного дозування, контролю вивільнення та додаткових досліджень щодо біосумісності активних речовин із ПГА, мульчування не потребує біосумісної або токсикологічної оцінки. Технологія впроваджується значно швидше, що є додатковою перевагою для агробізнесу.

Тож, мульчування ґрунту біорозкладними плівками на основі ПГА — це стратегічно важливий напрямок з точки зору екології, економіки та регуляторної відповідності. Його масштабність і простота впровадження роблять його найперспективнішим серед усіх аграрних застосувань біополімерів.

4.2. Огляд ринку плівок для мульчування

На сьогодні в агросекторі найбільш поширеними є мульчуючі плівки з поліетилену низької щільності (LDPE) та поліпропілену (PP). Вони ефективно виконують свою захисну функцію, проте не розкладаються в природних умовах, накопичуються в ґрунтах і стають джерелом довготривалого забруднення. Натомість біорозкладні плівки на основі ПГА створюють нову екологічну парадигму у мульчуванні, оскільки поєднують захисну ефективність з повною природною утилізацією без шкоди довкіллю (Campanale et al., 2024).

Для початку було проаналізовано наявний ринок плівок для мульчування (див.табл.4.2).

Таблиця 4.2.

Аналіз ринку плівок для мульчування

Назва/бренд	Тип матеріалу	Сертифікація	Біорозкладність	Термін служби	Особливості / коментарі
Ecovio® M 2351 (BASF)	PBAT + біополімери	EN 17033	Так (у ґрунті)	4–6 міс.	Добра міцність, легко обробляється
Mater-Bi	Mater-Bi (крохмаль+PHA)	OK Compost, EN 13432	Так (у ґрунті/компості)	1–12 міс.	Популярна плівка в органічному землеробстві
INZEA (NUREL)	PHA-основа	EN 17033	Так	До сезону	Може використовуватись з багатьма культурами
Biocartene® P	PLA/PHA суміш	EN 13432, EN 17033	Так	6–8 міс.	Після розкладання удобрює ґрунт
"Shadow" (LDPE)	Поліетилен (чорний/білий)	—	Ні	2–3 сезони	Потребує збирання, залишає мікропластик у ґрунті
"Агроспан"	Поліетилен (перфорований)	—	Ні	1–2 сезони	Недорогий, активно використовується в овочівництві
"Silostar" (Agroland)	Поліетилен з UV-стабілізацією	—	Ні	3 сезони	Підвищена міцність, використовується для багаторічних культур
"Agrotex Light"	LDPE, тонкий, для теплиць	—	Ні	1 сезон	Мінімальна товщина, дешево

Примітка: Ecovio® M 2351 - https://plastics-rubber.basf.com/global/en/performance_polymers/products/ecovio/ecovio_mulch_film, Mater-Bi - <https://www.novamont.com/eng/mater-bi>, INZEA (NUREL) - <https://nurel.com/en/biopolymers-division/inzea/>, Biocartene® P - https://webtc.eu/100%EF%BC%85_%D0%B1%D1%96%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D1%96%D1%87%D0%BD%D0%BE_%D1%80%D0%BE%D0%B7%D0%BA%D0%BB%D0%B0%D0%B4%D0%B0%D0%BD%D1%96_%D1%82%D0%B0_%D0%BA%D0%BE%D0%BC%D0%BF%D0%BE%D1%81%D1%82%D0%BE%D0%B2%D0%B0%D0%BD%D1%96_%D0%BF%D1%80%D0%BE%D0%B4%D1%83%D0%BA%D1%82%D0%B8-c-68/organick%C3%A9_mul%C4%8Dovac%C3%AD_f%C3%B3lie-c-68_72/%D0%BE%D1%80%D0%B3%D0%B0%D0%BD%D1%96%D1%87%D0%BD%D0%B0_%D0%BF%D0%BB%D1%96%D0%B2%D0%BA%D0%B0_%D0%B4%D0%BB%D1%8F_%D0%BC%D1%83%D0%BB%D1%8C%D1%87%D1%83%D0%B2%D0%B0%D0%BD%D0%BD%D1%8F-p-463?language=cz, "Shadow" (LDPE) - <https://termoland.in.ua/ua/p1783197592-plenka-premium-shadow.html?srsltid=AfmBOorSu6gwaim3CdJPNe1PH7P2K5TW8oOPOoCIRZPpdOCC698NPDv5>, "Агроспан" - <https://poliv-service.kiev.ua/ua/g112979435-agrovolokno-agrospan?srsltid=AfmBOopm-oCSA8y2DLTPWpGW4NSpSakLMS559j-cef-b27guX842YPmE>, "Silostar" (Agroland) - <https://www.barbiergroup.com/application/agricole/elevage/films-enrubannage-haute-resistance/>, "Agrotex Light" - <https://prom.ua/Shpagat-polipropilenovyj-agrotex-5-kg.html>

Біорозкладні плівки мають значно кращий екологічний профіль, проте можуть бути дещо дорожчими (але економлять на утилізації). Традиційні LDPE-плівки міцніші й дешевші, але потребують збору після сезону та призводять до забруднення мікропластиком. Оптимальним рішенням для сталого господарювання є перехід на сертифіковані плівки типу Ecovio, Mater-Bi або Biocartene, які відповідають вимогам EN 17033 та новим екологічним регламентам ЄС.

Для більшого обґрунтування в табл.4.3. було показано порівняння традиційних плівок та на основі ПГА.

Таблиця 4.3.

Порівняльна характеристика мульчуючих плівок з ПГА та традиційного поліетилену (LDPE)

Критерій	ПГА-плівки	Поліетиленові плівки (LDPE)
Походження	Біосинтетичне (з відновлюваної сировини)	Нафтопохідне
Біорозкладність	Повна, у ґрунті або компості (3–6 міс)	Відсутня; розпад на мікропластик (роки-десятиліття)
Вплив на мікробіоту ґрунту	Позитивний або нейтральний	Негативний (накопичення мікропластику)
Потреба у збиранні після сезону	Не потребує	Потребує ручного/механічного збирання
Механічна міцність	Добра (залежить від типу ПГА)	Висока
Еластичність	Помірна до високої (PHBV, PHBHHx)	Висока
Стійкість до ультрафіолету	Обмежена (може потребувати стабілізації)	Висока (може містити UV-стабілізатори)
Вартість	Вища (на сьогодні, через обсяги виробництва)	Низька
Регуляторні перспективи	Сприяння з боку екополітики та норм ЄС	Обмеження і заборони на використання в деяких країнах
Економія на утилізації	Так, за рахунок саморозкладу	Витрати на збирання, транспортування, переробку

Примітка: таблицю складено автором з джерела (Tan, Yang, Wei, Chen, & Li, 2023)

Хоча ПГА-плівки наразі мають вищу собівартість у виробництві, їх загальна економічна ефективність зростає завдяки зниженню витрат на утилізацію, штрафів за забруднення та поліпшенню довготривалих агроекологічних показників. У контексті сталого сільського господарства вони стають дедалі привабливішою альтернативою, особливо з урахуванням нових екологічних регламентів ЄС:

1. Включення біорозкладних мулчувальних плівок до Регламенту добрив (EU 2019/1009) (<https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2019/1009/oj/eng>)

31 жовтня 2024 року Європейський Союз затвердив зміни до Регламенту добрив (FPR), що включили ґрунт-біорозкладні мулчувальні плівки до категорії компонентів добрив (СМС 9) у підрозділі PFC 3 — «ґрунто-покращувальні матеріали». Такі плівки можуть отримати маркування CE з 20 листопада 2024 року, що дозволяє їх вільно продавати на ринку ЄС/ЄЕЗ

2. Положення Делегованого регламенту (EU) 2024/2787 від 23 липня 2024 (https://eur-lex.europa.eu/eli/reg_del/2024/2787/oj/eng)

Встановлюється чітка вимога: біорозкладність ґрунт-біорозкладних плівок має становити $\geq 90\%$ за ≤ 24 місяці, або прискорений тест при $37\text{ }^\circ\text{C}$ дозволяється як альтернативний критерій. Забезпечується біологічна безпека - полімери та продукти їх деградації мають проходити токсикологічні тести, зокрема хронічній токсичності для дощових черв'яків.

3. Обмеження щодо полімерів у добривах та технічних добавках (<https://www.fertilizerseurope.com/circular-economy/micro-plastics>)

З 2026 року на ринку ЄС дозволяються тільки біорозкладні полімери, що відповідають FPR, у таких продуктах, як технічні добавки в добривах (наприклад, антизлежувачі, контрольоване вивільнення)

4. Новий PPWR (Регламент про пакування та пакувальні відходи) (https://environment.ec.europa.eu/topics/waste-and-recycling/packaging-waste_en)

Від 12 серпня 2026 року починає діяти єдиний Розпоряд (PPWR), що шкалярно поширюється на упаковку, включаючи сільськогосподарські плівки, і

вводить жорсткі вимоги до рецикльованості і мінімального вмісту біорозкладних та перероблених матеріалів .

Тож, з урахуванням екологічних, технологічних та агрономічних переваг, пропонується виготовляти мульчуючі плівки на основі ПГА. Такий підхід відповідає сучасним вимогам до сталого розвитку агросектору, нормативам ЄС щодо біорозкладу та дозволяє мінімізувати антропогенний тиск на ґрунтові екосистеми.

Логічним є також вибір конкретного типу ПГА, оскільки різні представники цього класу полімерів демонструють різні фізико-механічні характеристики, що мають критичне значення для плівок, які мають витримувати коливання температур, сонячне випромінювання, механічне навантаження та одночасно — повністю розкладатись у ґрунтовому середовищі.

З цією метою в табл.4.4 (див. нижче) наведено порівняння потенційних кандидатів — РНВ, РНВV та РНВННх — як матеріалів для створення біорозкладної мульчуючої плівки в агротехнологіях. У контексті аграрного застосування особливо перспективними є РНВV (завдяки гнучкості та достатній міцності) та РНВННх (через кращу еластичність і швидшу деградацію в ґрунті).

Таблиця 4.4

Порівняння основних типів ПГА для використання в мульчуванні ґрунту

Критерій	РНВ	РНВV	РНВННх
Механічна міцність	Висока, але крихкий	Висока, помірна крихкість	Помірна, гнучкий
Еластичність	Низька	Помірна	Висока
Температура плавлення, °С	170–180	145–175	115–140
Біорозкладність у ґрунті	Повільна	Середня	Швидка
Стійкість до ультрафіолету	Обмежена	Середня	Низька (потребує стабілізації)
Стійкість до зовнішніх умов	Низька	Вища, ніж у РНВ	Висока

Придатність для екструзії	Обмежена через крихкість	Добра	Висока
Здатність до переробки	Складна	Добра	Відмінна
Вартість сировини	Відносно нижча	Середня	Вища
Загальна придатність для мульчування	Низька	Висока (оптимальний варіант)	Висока (для умов з високим навантаженням)

Примітка: таблицю складено автором з джерел (Zhou et al., 2023; Othman, Selambakkannu, & Seko, 2022; Vanheusden et al., 2023)

РНВ має добру міцність, але надто крихкий і погано оброблюється — малопродатний для польових умов.

РНВV — оптимальний компроміс між гнучкістю, біорозкладністю, міцністю та технологічною зручністю. Рекомендується як базовий полімер для виробництва агроплівки.

РНВННх має найкращу еластичність і швидку деградацію, однак потребує модифікації для стабілізації в умовах дії ультрафіолету. Підійде для плівок спеціального призначення (наприклад, в теплих і вологих кліматичних зонах).

Стабілізація полігідроксиалканоатів, зокрема РНВННх, проти УФ випромінювання є важливою умовою їх використання в агротехнологіях, зокрема в мульчуванні, оскільки під дією сонця полімер фотоокиснюється, втрачає міцність і прискорено деградує (Slaninova et al., 2018).

Основні методи стабілізації РНВННх до УФ-випромінювання

1. Додавання УФ-стабілізаторів (Slaninova et al., 2018)

Це найрозповсюдженіший та економічно ефективний спосіб. До РНВННх під час екструзії або пресування додають світлостабілізатори, які поглинають або нейтралізують УФ-промені.

Приклади УФ-стабілізаторів (Gugumus, 2002):

- Benzotriazole UV absorbers (наприклад, Tinuvin® 328, 327)
- HALS (Hindered Amine Light Stabilizers) — стабілізатори з затрудненими аміногрупами (наприклад, Chimassorb® 944)
- Комбінації HALS + UV-абсорбера — синергічний ефект

Механізм дії: поглинають УФ-фотони, запобігаючи руйнуванню полімерного ланцюга та утворенню вільних радикалів.

2. Покриття плівки світлостабільними шарами

Іноді ПГА-плівки (в т.ч. з РНВННх) покривають тонкою захисною плівкою або ламінують із сумісним полімером, у якому вже є світлостабілізатори. Такий варіант застосовують для покриттів із селективним проникненням світла (наприклад, у тепличному мульчуванні) (Oliver-Cuenca et al., 2024).

3. Співполімеризація з більш стійкими мономерами

У процесі мікробного синтезу РНВННх можна модифікувати вміст гідрокси-гексаноатних та ін. Ланок, що дозволяє збільшити стабільність полімеру за рахунок зміни кристалічності й гідрофобності (Li et al., 2005).

4. Використання природних антиоксидантів

Це екологічна альтернатива синтетичним стабілізаторам. До РНВННх можна додавати антиоксиданти (Yang et al., 2016):

- токоферолі (вітамін Е),
- екстракти розмарину,
- поліфенольні похідні.

Вони можуть уповільнювати окислення полімеру під дією УФ, але зазвичай мають меншу ефективність у відкритому середовищі без захисту.

В табл.4.5. показано концентрації деяких стабілізаторів для створення стійкої до УФ плівки РНВННх.

Порівняння стабілізаторів УФ

Стабілізатор	Рекомендована концентрація у РНВННх	Коментар	Вартість, грн/кг	Джерело
Tinuvin® 328	0.3–0.5%	Поглинає UV-A і UV-B	416	https://www.indiamart.com/proddetail/uv-absorber-tinuvin-328-cas-25973-55-1-26002297848.html?srsId=AfmBOorDpTKjvNdoBfTFsbWxNY-jX-LDU-yueEmZzWVHM55YKshDgDmM
Chimassorb® 944 (HALS)	0.2–0.4%	Радикально сповільнює деградацію	555	https://www.alibaba.com/product-detail/B-ASF-Chimassorb-944-Anti-Aging_1601363306089.html?spm=a2700.7724857.0.0.56e6bed0N0JhAd
Вітамін Е (токоферол)	0.5–1%	Екобезпечний, проте менш ефективний	428	https://www.alibaba.com/product-detail/Water-Soluble-100-Pure-Natural-Vitamin_1600205950368.html?spm=a2700.7724857.0.0.33d030afmBEM1O
Сажистий вуглець	0,5-2%	Поглинає УФ, барвник чорного кольору, але може знизити біодеградабельність	50	https://prom.ua/ua/p25033305-sazha-stroitel'naya-uglerod.html

Отже, з врахуванням всіх особливостей, пропонується виготовляти РНВННх з сажистим вуглецем, що є дешевим та екологічним матеріалом, який відіграє роль барвника та УФ-стабілізатора. Таке рішення є оптимальним для забезпечення якісної агроплівки.

4.3. Розрахунок річної потужності виробництва

В Україні агроплівка та агроволокно широко застосовуються в сільському господарстві для покращення умов вирощування рослин. Основні культури, для яких використовують ці матеріали, можна поділити на кілька груп.

Агроплівка найчастіше застосовується для овочевих культур, таких як помідори, огірки, баклажани, перець та картопля. Чорна плівка сприяє прогріванню ґрунту, збереженню вологи та пригніченню росту бур'янів, що покращує умови для росту рослин і підвищує врожайність. Для картоплі часто використовують агроволокно, яке захищає рослини від несприятливих погодних

умов і дозволяє продовжити період вирощування (<https://campuscottonclub.com/novyny/tsikavi-fakty-pro-ahrovolokno>).

Для ягідних культур, зокрема полуниці, малини та лохини, застосовують чорну плівку або агроволокно для мульчування. Це допомагає зберігати вологу в ґрунті, зменшувати ріст бур'янів та створювати оптимальні умови для розвитку кореневої системи (<https://agreemarket.com.ua/uk/blog-uk/scho-vibrati-dlja-mulchuvannja-agrotkaninu-chi-agrovolokno-uk.html>).

Для теплолюбних культур, таких як гарбузи, кавуни, дині, використовують прозору плівку, яка сприяє швидшому прогріванню ґрунту та прискоренню проростання насіння. Біле агроволокно застосовують для покриття теплиць, що забезпечує рівномірний розподіл світла та захист рослин від заморозків

(https://vue.gov.ua/%D0%91%D0%B0%D1%88%D1%82%D0%B0%D0%BD%D0%BD%D1%96_%D0%BA%D1%83%D0%BB%D1%8C%D1%82%D1%83%D1%80%D0%B8).

Станом на 2024 рік кількість посівних площ для огірків становило 46,7 тис.га. З врахуванням того, що фізично забезпечити всю країну неможливо, пропонується обрати посівні площі Черкаської області яка станом на 2024 рік мала 2,4 тис.га, що є середнім показником по країні (<https://www.ukrstat.gov.ua/>). З врахуванням того, що агроплівку натягують на рядок та вкопують в землю (припустимо, що це 10% від всієї площі), можемо визначити загальну потребу в агроплівці для Київської області.

$$2\,400 \text{ га} \times 0,1 + 2\,400 \text{ га} = 2\,640 \text{ га агроплівки}$$

Як відомо, в 1 га знаходиться 10 000 м². Тож, річна потреба в плівці на всю Україну становить:

$$2\,640 \times 10\,000 = 26\,400\,000 \text{ м}^2$$

Стандартна товщина плівки з поліетиленом низької щільності становить 20 мкм (<https://prom.ua/ua/p336647077-plenka-chernaya-20mkm.html>) на що будемо спрямовувати подальший розрахунок. Для початку маємо визначити

скільки потрібно самого РНВННх для виробництва такої плівки. Щільність цього матеріалу становить близько (усереднено) $1,22 \text{ г/см}^3$ (Mota et al., 2017). Знаючи це, можемо розрахувати масу РНВННх, що припадає на 1 м^2 плівки за наступною формулою:

$$\text{Маса на } 1 \text{ м}^2 = \text{Товщина (см)} \times 10^4 \times \text{Щільність (г/см}^3)$$

Де " 10^4 " = $10\,000 \text{ см}^2$, тобто скільки квадратних сантиметрів міститься в 1 м^2 .

Тож, для виробництва 1 м^2 плівки з РНВННх необхідно:

$$0,002 \times 10\,000 \times 1,22 = 24,4 \text{ г}$$

Отже, для забезпечення всієї Черкаської області потрібно:

$$24,4 \times 26\,400\,000 = 644\,160\,000 \text{ г} \approx 644,2 \text{ т}$$

Оскільки таку кількість забезпечити одній компанії абсолютно неможливо, пропонується виготовляти лише 2% від загальної потреби, що складатиме:

$$644,2 \times 0,02 \approx 12,884 \text{ т}$$

Як біологічний агент було обрано *S. necator* MF01/pBPP-ccr_{Me}J_{Ac}-emd, який синтезує $85,2 \pm 0,62 \text{ г/л}$ РНВННх (Tanaka, Orita, & Fukui, 2025). Тоді, кількість культуральної рідини без врахування втрат на рік становитиме:

$$\frac{12\,884}{85,2} \approx 151,2 \text{ м}^3$$

З врахуванням втрат, що будуть складати близько 20% , річна потреба в культуральній рідині становитиме:

$$\frac{151,2}{(1 - 0,2)} = 189 \text{ м}^3$$

Припустимо, що кількість трудоднів нашого виробництва сягає близько 330 діб. Тоді, за одну добу кількість культуральної рідини складе:

$$189/330 \approx 573 \text{ л}$$

Розрахуємо кількість культуральної рідини за один цикл, ($V_{\text{крц}}$):

$$V_{\text{крц}} = K_1 \cdot V_d \cdot T_{\text{цф}} / 24 = 1,1 \cdot 573 \cdot 103 / 24 \approx 2705 \text{ л},$$

де $T_{\text{цф}}$ - цикл роботи ферментера, який включає: мийку та огляд – 1,5 год, перевірку на герметичність – 0,5 год, підігрів та стерилізацію апарату – 1,5 год, охолодження ферментеру – 1 год, завантаження поживного середовища – 1,5 год, засів культурою – 0,5 год, ферментацію – 96 год, та вивантаження – 0,5 год, і становить 103 годин. K_1 – коефіцієнт запасу, що враховує можливість нестерильних операцій ($K_1 = 1,1$).

За виробничий цикл отримують $V_{\text{кр}} = 2705$ л культуральної рідини.

Кількість поживного середовища та посівного матеріалу перед виробничим біосинтезом з врахуванням втрат в результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря (10%) становитиме:

$$V_{\text{роб.1}} = V_{\text{кр}} / (1 - E_{\text{ф}}) = 2705 / (1 - 0,1) = 3005,6 \text{ л,}$$

де $E_{\text{ф}}$ – втрати культуральної рідини під час біосинтезу.

Виробничий біосинтез здійснюють у ферментері з робочим об'ємом $V_{\text{роб.1}} = 3005,6$ л.

При вибраному коефіцієнті заповнення $K_{\text{зап}} = 0,6$ можливий геометричний об'єм ферментера $V_{\text{ф.1}} = 3005,6 / 0,6 = 5009$ л. Приймаємо найближчий за об'ємом стандартний ферментер $V_{\text{сф}} = 5 \text{ м}^3$ та уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт заповнення:

$$K_{\text{зап.1}} = V_{\text{роб.1}} / V_{\text{сф}} = 3005,6 / 5000 = 0,6$$

Уточнений коефіцієнт дозволяється для ферментерів з аерацією.

Кількість посівного матеріалу для ферментера становить 10% від об'єму поживного середовища. Тоді кількість поживного середовища у ферментері становитиме:

$$V_{\text{пс1}} = V_{\text{роб.1}} / (1 + X_{\text{ф}}) = 3005,6 / (1 + 0,1) = 2732,4 \text{ л}$$

Кількість посівного матеріалу для ферментера становить:

$$V_{\text{пм1}} = V_{\text{роб.1}} - V_{\text{пс1}} = 3005,6 - 2732,4 = 273,2 \text{ л}$$

Для одержання 273,2 л інокуляту в інокуляторі враховуємо втрати в результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря (10%). Тоді кількість поживного середовища та посівного матеріалу в інокуляторі становить:

$$V_{\text{роб.2}} = V_{\text{пм1}} / (1 - E_{\text{ф}}) = 273,2 / (1 - 0,1) \approx 303,5 \text{ л}$$

Можливий геометричний об'єм інокулятора $V_{\text{ін}} = 303,5 / 0,6 = 505,8 \text{ л}$.

Приймаємо найближчий за об'ємом стандартний посівний апарат $V_{\text{сін}} = 500 \text{ л}$ та уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт заповнення:

$$K_{\text{зап.2}} = V_{\text{роб.2}} / V_{\text{сін}} = 303,5 / 500 = 0,61$$

Уточнений коефіцієнт заповнення перебуває у дозволених межах.

Кількість поживного середовища в інокуляторі становитиме:

$$V_{\text{пс2}} = V_{\text{роб.2}} / (1 + X_{\text{ін}}) = 303,5 / (1 + 0,1) \approx 275,9 \text{ л}$$

Тоді кількість посівного матеріалу для інокулятора становить:

$$V_{\text{пм2}} = V_{\text{роб.2}} - V_{\text{пс2}} = 303,5 - 275,9 = 27,6 \text{ л}$$

Для одержання 27,6 л інокуляту в інокуляторі враховуємо втрати в результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря (10%). Тоді кількість поживного середовища та посівного матеріалу в інокуляторі становить:

$$V_{\text{роб.3}} = V_{\text{пм2}} / (1 - E_{\text{ф}}) = 27,6 / (1 - 0,1) \approx 30,6 \text{ л}$$

Можливий геометричний об'єм інокулятора $V_{\text{ін}} = 30,6 / 0,6 = 51 \text{ л}$.

Приймаємо найближчий за об'ємом стандартний посівний апарат $V_{\text{сін}} = 50 \text{ л}$ та уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт заповнення:

$$K_{\text{зап.3}} = V_{\text{роб.3}} / V_{\text{сін}} = 30,6 / 50 = 0,61$$

Уточнений коефіцієнт заповнення перебуває у дозволених межах.

Кількість поживного середовища в інокуляторі становитиме:

$$V_{\text{пс3}} = V_{\text{роб.3}} / (1 + X_{\text{ін}}) = 30,6 / (1 + 0,1) \approx 27,8 \text{ л}$$

Тоді кількість посівного матеріалу для інокулятора становить:

$$V_{\text{пм3}} = V_{\text{роб.3}} - V_{\text{пс3}} = 30,6 - 27,8 = 2,8 \text{ л}$$

Для одержання 2,8 л інокуляту в інокуляторі враховуємо втрати в результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря (10%). Тоді кількість поживного середовища та посівного матеріалу в інокуляторі становить:

$$V_{\text{роб.4}} = V_{\text{пм3}} / (1 - E_{\text{ф}}) = 2,8 / (1 - 0,1) \approx 3,1 \text{ л}$$

Можливий геометричний об'єм інокулятору $V_{ін} = 3,1/0,6 = 5,1$ л. Приймаємо найближчий за об'ємом стандартний посівний апарат $V_{сін} = 5$ л та уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт заповнення:

$$K_{зап.4} = V_{роб.4} / V_{сін} = 3,1/5 = 0,62$$

Уточнений коефіцієнт заповнення перебуває у дозволених межах.

Кількість поживного середовища в інокуляторі становитиме:

$$V_{пс4} = V_{роб.4} / (1 + X_{ін}) = 3,1 / (1 + 0,1) \approx 2,8 \text{ л}$$

Тоді кількість посівного матеріалу для інокулятора становить:

$$V_{пм4} = V_{роб.4} - V_{пс4} = 3,1 - 2,8 = 0,3 \text{ л}$$

0,3 л посівного матеріалу ми можемо отримати використовуючи колби об'ємом 750 мл та коефіцієнтом заповнення $K_{зк} = 0,2$. Кількість колб становитиме:

$$N_{колб} = V_{пм4} / (V_{колб} \times K_{зап}) = 300 / (750 \times 0,2) = 2 \text{ шт.}$$

Таким чином, для одержання посівного матеріалу необхідно 2 колб.

Отже, процес одержання посівного матеріалу для забезпечення виробничого культивування у ферментері об'ємом 5 м³ з коефіцієнтом заповнення 0,6 буде проходити у 4 етапи.

РОЗДІЛ 5
ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ СТАДІЙ ТЕХНОЛОГІЧНОГО
ПРОЦЕСУ ДЛЯ ОДЕРЖАННЯ СУБСТАНЦІЇ
ПОЛІГІДРОКСИАЛКАНОАТУ

5.1. Обґрунтування вибору післяферментаційних процесів отримання субстанції полігидроксиалканоату

PHВННх належить до класу полігидроксиалканоатів (ПГА) — біорозкладних полімерів, які синтезуються мікроорганізмами як внутрішньоклітинні запасні речовини. Після завершення ферментаційного процесу виникає потреба у виділенні та очищенні полімеру з клітинної маси. Загальна технологія включає низку послідовних стадій, кожна з яких має свою функціональну роль у забезпеченні якісного отримання цільового продукту (Tanaka, Orita, & Fukui, 2025). Нижче описано основні етапи технологічного процесу виділення та очищення PHВННх (Oh et al., 2025).

1. Після завершення ферментації клітинна біомаса відокремлюється від культурального середовища. Це здійснюється за допомогою центрифугування або мікрофільтрації. Зібрану біомасу зазвичай промивають дистильованою водою для видалення залишків поживного середовища та підготовки до наступного етапу — лізису клітин.

2. Наступним етапом є руйнування клітинної стінки, що забезпечує вивільнення полімеру у вигляді внутрішньоклітинних гранул. Для цього використовуються різні підходи:

- Хімічний лізис: застосування розчинів лугів (наприклад, 0,2 М NaOH) або поверхнево-активних речовин, таких як 0,5% SDS, при температурі 50–60 °С.
- Гіпохлоритний метод: обробка клітин 10–13% розчином гіпохлориту натрію (NaOCl) за кімнатної температури.

					<i>НУХТ БТЕК 02.01.04 КР ПЗ</i>				
<i>Змн.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>					
<i>Розроб.</i>	<i>Косовець І.Р.</i>				<i>РОЗДІЛ 5</i>		<i>Лім.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Перевір.</i>	<i>Стабніков В.П.</i>				<i>ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ СТАДІЙ ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ ДЛЯ ОДЕРЖАННЯ СУБСТАНЦІЇ ПОЛІГІДРОКСИАЛКАНОАТУ</i>			62	122
<i>Реценз.</i>									
<i>Н. Контр.</i>									
<i>Затверд.</i>	<i>Стабніков В.П.</i>								
					<i>Кафедра БТМ</i>				

- Механічний лізис: ультразвукове руйнування клітин (частота близько 20 кГц) або гомогенізація під високим тиском.
- Ферментативний лізис: використання ферментів, які руйнують клітинну стінку, зокрема протеїназ.

3. Виділення РНВННх-гранул

Після лізису РНВННх вивільняється у вигляді гідрофобних гранул. Гранули осаджуються центрифугуванням або фільтрацією. Отриманий осад промивають дистильованою водою, 70% етанолом або сольовими буферами з метою видалення залишків клітинного матеріалу та лізуючих агентів.

4. Розчинення та очищення полімеру

Часто для покращення чистоти полімер розчиняють в органічних розчинниках. Найчастіше застосовується хлороформ, у якому РНВННх добре розчиняється при температурі 50–60 °С. Після розчинення полімер осаджують за допомогою нерозчинних у ньому осаджувачів, наприклад метанолу або етанолу. Співвідношення розчинник: осаджувач зазвичай становить 1:3 або 1:4. Осаджений полімер збирається шляхом центрифугування або фільтрації. У разі потреби процес екстракції повторюють для підвищення ступеня чистоти.

Як екологічні альтернативи також досліджуються методи очищення із застосуванням ферментів або неорганічних солей, що дозволяє знизити використання токсичних органічних розчинників.

5. Сушіння очищеного полімеру

Фінальним етапом є сушіння очищеного полімеру. Сушіння проводять у вакуумних сушарках при температурі 40–50 °С до досягнення стабільного залишкового вмісту вологи. У деяких випадках використовується ліофілізація, особливо якщо полімер чутливий до термічного руйнування.

За результатами цього процесу отримується високоочищений РНВННх, придатний для використання в біорозкладних упаковках, мульчуючих агроплівках, імплантатах або інших екологічно безпечних матеріалах. Надалі за

потреби полімер може бути модифікований або введений у композиції з іншими добавками для поліпшення експлуатаційних характеристик.

Для обраного біологічного агента наведена наступна аналітична методика «Культуральний бульйон після термічної обробки (нагрівали для деактивації РНА-деполімерази) в киплячій воді центрифугували, а зібрані клітини піддавали ліофілізації при $-55\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ліофілізовані клітини суспендували в розчині метанолу та хлороформу, що містив 15% сірчаної кислоти, а потім обробляли прямим метанолізом при $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ протягом 140 хвилин. Кількість метилових естерів ЗНВ та ЗННх, що утворилися в кислому метанольному розчині, визначали за допомогою газової хроматографії». Така методика не підходить для промислового виділення та очищення, оскільки кінцево одержується не полімер, а його метильовані естери (Tanaka, Orita, & Fukui, 2025).

Для виділення та очищення пропонується обрати методику, що застосовували для промислового одержання РНВННх за допомогою *Aeromonas hydrophila* 4АК4. Вона також є грамнегативною бактерією, як і *Cupriavidus necator*, через що теоретично використати таку схему, тим паче яку реалізовано для промислового масштабу, можна. Промислове виділення та очищення РНВННх для *A. hydrophila* 4АК4 має наступний пропис: «Клітини у ферментері об'ємом 20 000 л осаджували, додаючи до ферментера 1% Na_2HPO_4 , 1% CaCl_2 та 100 ppm поліакриламід. Бульйон, що містив осад клітин, обробляли через фільтр-прес для видалення води. Клітинний осад додатково обробляли у роторній вакуумній сушарці для видалення залишкової води. Висушений клітинний осад перетворювали на порошки за допомогою подрібнювача. ПГА екстрагували з 200–500 кг сухого клітинного порошку в екстракційному резервуарі об'ємом 30 000 л, що містив 5000 л етилацетату, при легкому перемішуванні при 60°C протягом 2 годин. Розчин етилацетату, що містить Р(ЗНВ-со-ЗННх), пропускали через металевий фільтр (2 мкм) та центрифугували для видалення дрібних клітинних залишків. Р(ЗНВ-со-ЗННх) в етилацетаті осаджували додаванням 15 000 л гексану або гептану. Усі розчинники, що

використовувалися для відновлення Р(ЗНВ-со-ЗННх), переробляли. Флокулянти Р(ЗНВ-со-ЗННх) збирали за допомогою фільтр-преса. Осад Р(ЗНВ-со-ЗННх) тричі промивали етанолом для видалення лауринової кислоти та залишкових органічних розчинників. Нарешті, промитий Р(ЗНВ-со-ЗННх) сушили у вакуумі протягом ночі» (Chen, Zhang, Park, & Lee, 2001).

Оскільки зазначена схема має певні особливості саме для *A. hydrophila* 4AK4, маємо обґрунтувати кожен етап який буде або ж не буде реалізовано для *C. necator* MF01/pBPP-ccr_{Me}J_{Ac}-emd.

5.1.1. Обґрунтування попередньої обробки культуральної рідини

На промисловому рівні після завершення фази культивування у ферментері виникає необхідність відокремити клітинну масу *Cupriavidus necator* від культуральної рідини для подальшої екстракції полімеру. Для цього необхідно обрати ефективну, масштабовану та економічно доцільну комбінацію методів. Порівняно з лабораторною схемою, яка включала кип'ятіння для дезактивації деполімерази та ліофілізацію, у промисловому виробництві такі підходи є неприйнятними через високу енерговитратність, трудомісткість та ризик термічного руйнування ПГА (Tanaka, Orita, & Fukui, 2025; Chen, Zhang, Park, & Lee, 2001).

Термічна обробка

Кип'ятіння культурального бульйону в лабораторних умовах використовується для дезактивації РНА-деполімерази, однак у промисловому масштабі воно є технічно складним та економічно недоцільним. Крім того, висока температура може частково деградувати РНВННх, особливо за наявності домішок, таких як луги або кислоти (Tanaka, Orita, & Fukui, 2025).

Замість кип'ятіння доцільніше одразу приступити до швидкого відділення біомаси з охолодженням культуральної рідини до температури нижче 25 °С, щоб мінімізувати активність деполімераз. Якщо необхідно, деполімерази можна деактивувати на пізніших стадіях — наприклад, у присутності розчинників чи етанолу.

Осадження флокулянтами

У промисловому протоколі з *A. hydrophila* застосовували попереднє осадження клітин за допомогою комбінації 1% Na_2HPO_4 , 1% CaCl_2 та 100 ppm поліакриламід. Такий підхід дозволяє частково агрегувати клітини у великі флокули та зменшити навантаження на механічну стадію зневоднення (фільтр-прес) (Chen, Zhang, Park, & Lee, 2001).

Для *S. necator* та інших грамнегативних бактерій також було показано ефективність подібної системи флокулянтів, зокрема з використанням поліелектролітів на основі поліакриламід. Це дозволяє уникнути енергозатратної центрифугації великих об'ємів бульйону.

Застосування трикомпонентної системи флокулянтів ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 + \text{CaCl}_2 +$ поліакриламід) є доцільним, оскільки вона вже довела ефективність для іншого грамнегативного продуцента РНВННх і не є специфічною лише для *A. hydrophila*.

Тому, як попередня обробка пропонується преципітація за допомогою флокулянтів.

5.1.2. Обґрунтування відокремлення біомаси від культуральної рідини

У промисловості традиційно використовуються або:

- Центрифуги декантери (дискові або горизонтальні) — більш ефективні за продуктивністю, але потребують дорогої техніки, мають високі експлуатаційні витрати (Tanaka, Orita, & Fukui, 2025);
- Фільтр-преси — забезпечують якісне зневоднення, дешевші в обслуговуванні, але працюють повільніше, потребують попереднього осадження флокулянтами для підвищення ефективності (Chen, Zhang, Park, & Lee, 2001).

Оскільки ми вже використовуємо флокулянти, фільтр-прес як наступна стадія логічно доповнює процес і дозволяє уникнути громіздкого обладнання для центрифугування на рівні 3 000 л. Для зневоднення клітинної маси доцільно

використовувати фільтр-прес, попередньо здійснивши флокуляцію клітин у ферментері.

Нижче наведено порівняльну таблицю, яка дозволяє оцінити центрифугування та фільтрування через фільтр-прес для відокремлення та зневоднення біомаси під час промислового виділення РНВННх.

Таблиця 5.1.

Порівняння основних методів відокремлення біомаси в промислових умовах для виділення ПГА

Критерій	Центрифугування	Фільтрування через фільтр-прес
Продуктивність	Висока, може обробляти великі об'єми за короткий час	Помірна, залежить від площі фільтра та тиску
Енергоспоживання	Високе (особливо при високих обертах та великих об'ємах)	Низьке–помірне (механічне стискання, без обертання)
Капітальні витрати (обладнання)	Високі (дискові або декантерні центрифуги коштовні)	Нижчі, фільтр-преси дешевші у придбанні
Експлуатаційні витрати	Високі (обслуговування, енергія, зношування рухомих частин)	Нижчі (періодична заміна фільтрувального полотна)
Необхідність попереднього осадження	Немає потреби	Обов'язкове (для ефективності часто додають флокулянти)
Можливість автоматизації	Висока (легко інтегрується у безперервний процес)	Середня (працює пакетно, потребує циклічного обслуговування)
Якість зневоднення	Відносно нижча — волога біомаса (~60–70% вологи)	Вища — осад після фільтрації містить менше води (~40–50%)
Потреба флокулянтах	Не обов'язкова	Переважно потрібні (для зменшення в'язкості середовища)
Займана площа	Компактні установки	Займає більше площі (особливо у великому масштабі)
Наявність дрібного залишку супернатанті	Можливе часткове забруднення, потребує доочищення	Мінімальна кількість залишкової фази

Примітка: таблицю складено автором самостійно джерела (Карлаш, 2022)

У промисловому виробництві РНВННх фільтр-прес доцільніше використовувати:

- якщо впроваджено попереднє флокулювання (як у випадку з *A. hydrophila* 4АК4)
- якщо необхідна мінімізація витрат на енергію та обладнання,
- та коли потрібна краща ступінь зневоднення біомаси перед сушінням.

Центрифугування може бути доцільне у випадках, коли процес потребує високої швидкості, безперервності та мінімальної підготовки культурального середовища.

5.1.3. Обґрунтування сушіння біомаси перед екстракцією полігідроксиалканоату

Сушіння клітинної біомаси є критично важливим етапом у промисловому виробництві полігідроксиалканоатів, зокрема РНВННх. Цей процес виконує кілька ключових функцій (Карлаш, 2022):

- Зниження вологості — вода заважає ефективній екстракції полімеру органічними розчинниками (етилацетатом, хлороформом тощо), бо утворює дві фази та знижує розчинність полімеру.
- Покращення екстрагування — суха біомаса краще диспергується в органічному середовищі, що підвищує контактну поверхню і ступінь вилучення РНВННх.
- Зменшення об'єму матеріалу — суха маса є щільнішою, компактнішою, з нею легше працювати у великих резервуарах.
- Збереження полімеру — за правильно підбраного режиму сушіння (невисока температура, вакуум) вдається уникнути термічного розкладу РНВННх, який може починатися вже при 120 °С.

В табл.5.2 показано порівняння різних методів сушіння ПГА.

Порівняння методів сушіння біомаси як попереднього етапу перед екстракцією ПГА

Параметр	Роторна вакуумна сушарка (приклад з <i>A. hydrophila</i>)	Сушіння в сушильній шафі (конвективне)	Ліофілізація (сублімація)
Температурний режим	40–60 °C у вакуумі	60–80 °C при атмосферному тиску	-40...–60 °C, під вакуумом
Час сушіння	6–12 годин	12–24 години	24–48 годин
Втрата полімеру	Мінімальна	Ймовірна (через часткову термодеструкцію при >70 °C)	Мінімальна, висока стабільність
Потужність/ енерговитрати	Помірна (за рахунок вакууму)	Помірна–висока	Дуже висока
Виробнича масштабованість	Висока, легко реалізується у промислових умовах	Висока, але менш ефективна за якістю	Низька — підходить тільки для лабораторного рівня
Вартість обладнання	Середня	Низька	Дуже висока
Форма продукту	Суха, рівномірна порошкоподібна маса	Можливі агломерати, злежування	Пухкий, пористий порошок

Примітка: таблицю складено автором самостійно джерела (Карлаш, 2022)

Враховуючи промислову спрямованість, найбільш доцільним методом сушіння клітинної маси є використання роторної вакуумної сушарки. Це пояснюється такими перевагами:

- контроль температури сушіння в межах безпечних для РНВННх (до 60 °C),
- швидке та ефективне зневоднення,
- можливість інтеграції в безперервний технологічний процес,
- краща підготовка матеріалу до екстракції (подальше подрібнення в порошок).

Методи конвективного сушіння або ліофілізації менш придатні:

- перший — через ризик термічного ушкодження полімеру,

- другий — через непридатність для масштабування та високу вартість.

5.1.4. Обґрунтування подрібнення біомаси перед екстракцією полігідроксиалканоатів

Після сушіння клітинної маси наступним важливим технологічним етапом є подрібнення висушеної біомаси. Це обґрунтовується як технологічно, так і економічно, особливо з урахуванням особливостей вилучення РНВННх органічними розчинниками в промислових умовах (Chen, Zhang, Park, & Lee, 2001).

1. Збільшення площі контакту з розчинником (Карлаш, 2022)

Полімер РНВННх є внутрішньоклітинним продуктом і не виходить за межі клітин після сушіння. Тому для ефективної екстракції потрібен інтенсивний контакт між органічним розчинником і внутрішнім вмістом клітин. Чим менший розмір частинок, тим більша площа контакту, що прискорює проникнення розчинника та підвищує ступінь вилучення полімеру.

2. Полегшення перемішування в екстракційному резервуарі

Подрібнена біомаса краще диспергується у розчиннику (етилацетат, хлороформ, дихлорметан), не осідає надто швидко й забезпечує гомогенне середовище для екстракції. Це дозволяє уникнути застою фаз, покращує теплообмін і зменшує нерівномірність вилучення.

3. Покращення ефективності розчинення полімеру (Карлаш, 2022)

У великих клітинних фрагментах РНВННх може залишатися недоступним для розчинника, особливо якщо клітинні стінки не повністю зруйновані. Подрібнення сприяє механічному розриву клітинних структур та кращому вивільненню гранул полімеру, навіть без додаткового хімічного лізису.

4. Уніфікація сировини для масштабованого процесу

Отриманий порошок має стандартизований розмір частинок, що полегшує автоматизацію подачі сировини в екстрактори, дозування,

перемішування та навіть наступні стадії фільтрації та сушіння готового продукту.

У промислових умовах для подрібнення висушеної біомаси використовують:

- молоткові дробарки,
- роторні подрібнювачі,
- шнекові млини з ситами, з розміром частинок на виході приблизно 0,5–2 мм.

Подрібнення біомаси перед екстракцією РНВННх є критично важливим етапом, що забезпечує:

- високу ефективність вилучення полімеру,
- оптимальне використання органічного розчинника,
- стабільну якість продукту при масштабуванні процесу.

Цей етап також знижує ризики неповного вилучення РНВННх та зменшує витрати на повторну екстракцію.

Для промислового подрібнення висушеної мікробної біомаси з метою подальшої екстракції РНВННх доцільно обрати роторно-ударний або молотковий подрібнювач із системою контролю розміру частинок.

5.1.5. Обґрунтування розчинника для екстракції полігідроксиалканоату

Після сушіння та подрібнення біомаси важливим етапом у технології очищення полігідроксиалканоатів, зокрема РНВННх, є екстракція полімеру з внутрішньоклітинного середовища за допомогою органічного розчинника. Для цього найчастіше застосовуються такі розчинники як хлороформ і етилацетат, кожен із яких має свої переваги та обмеження. Обґрунтований вибір розчинника напряду впливає на ефективність вилучення полімеру, якість кінцевого продукту, безпечність процесу та економічні витрати виробництва (Chen, Zhang, Park, & Lee, 2001).

Хлороформ традиційно використовується у лабораторних умовах для екстракції як РНВ, так і його кополімерів. Його головна перевага — максимальна розчинна здатність до РНВННх, що дозволяє отримати дуже чистий полімер навіть за відносно короткого часу екстракції. Однак хлороформ є токсичним, летким і канцерогенним, тому потребує особливої утилізації, роботи в герметичних умовах та підключення витяжних систем. З огляду на це, його використання в промисловому масштабі є проблематичним і небезпечним як для персоналу, так і для довкілля (Tanaka, Orita, & Fukui, 2025).

Етилацетат — це менш токсичний розчинник, який дозволений для використання у фармацевтичній і харчовій промисловості. Він також добре розчиняє РНВННх, особливо при температурі 50–60 °С, але є селективнішим — розчиняє переважно полімер, залишаючи більшість білків та ліпідів у твердій фазі. Завдяки цьому етилацетат дає можливість отримати чистий полімер, не вдаючись до додаткових кроків очищення. У промисловій практиці вже доведено ефективність цього розчинника: саме його використовують при масштабному виробництві РНВННх з *A. hydrophila* 4АК4, і він цілком сумісний із подібними продуцентами, зокрема *C. necator* (Chen, Zhang, Park, & Lee, 2001).

Етилацетат також має перевагу у можливості повторного використання — його легко переганяти та регенерувати. Це важливо з екологічної та економічної точок зору. Його температура кипіння вища, ніж у хлороформу (близько 77 °С), тому він менше випаровується при кімнатній температурі, що робить його безпечнішим для роботи без герметичних реакторів (Bhandari, Joshi, & Patel, 2023).

Попри високу ефективність хлороформу як розчинника в лабораторних дослідженнях, його токсичність, леткість та екологічна небезпека роблять його не вигідним і небезпечним у промисловому застосуванні. Натомість етилацетат є оптимальним вибором для екстракції РНВННх у промислових умовах, оскільки він:

- забезпечує високу розчинність полімеру,

- є менш токсичним і безпечним для персоналу,
- дозволяє повторне використання після перегонки,
- вже використовується на виробництві РНВННх з грамнегативних продуцентів.

Відтак, для реалізації екстракційного етапу у виробництві РНВННх з *Cupriavidus necator* MF01/pBPP-ccrMeJAc-emd доцільно застосовувати етилацетат як основний органічний розчинник.

Після завершення екстракції полімеру РНВННх у розчиннику, яким зазвичай є етилацетат, отриманий розчин містить не лише розчинений полімер, але й дрібні частинки клітинних залишків, не розчинених домішок та інші механічні суспензії. Для забезпечення високої якості кінцевого продукту та підготовки розчину до подальших стадій очищення, необхідно провести фільтрування і центрифугування розчину (Chen, Zhang, Park, & Lee, 2001).

Етап фільтрування дозволяє механічно відокремити більші тверді частинки — клітинні фрагменти, агрегати та інші нерозчинні домішки, які могли залишитись у розчині після екстракції. Застосування металевих або синтетичних фільтрів з дрібною пористістю (наприклад, 2 мкм) забезпечує утримання цих часток і запобігає їх потраплянню у наступні етапи обробки, де вони можуть викликати засмічення обладнання або погіршувати якість полімеру (Chen, Zhang, Park, & Lee, 2001).

Проте дрібнодисперсні частинки, особливо колоїдного розміру, можуть проходити через фільтри, залишаючись у розчині. Для їх видалення застосовується центрифугування, яке за рахунок високої гравітації змушує важчі частинки осідати на дно, очищуючи розчин. Центрифугування підвищує прозорість розчину, знижує вміст механічних домішок і сприяє одержанню полімеру з більшою чистотою (Chen, Zhang, Park, & Lee, 2001).

Отже, поєднання фільтрування і центрифугування є необхідним для ефективного очищення екстракту перед наступним етапом — осадженням полімеру. Ці технологічні операції забезпечують стабільність процесу,

захищають обладнання від засмічення та сприяють одержанню кінцевого продукту високої якості.

5.1.6. Обґрунтування осадження полігідроксиалканоату

Після того, як полімер РНВННх було екстраговано з клітинної біомаси за допомогою органічного розчинника, наприклад, етилацетату, наступним важливим технологічним кроком є осадження полімеру з розчину. Цей етап необхідний для переведення полімеру з розчиненого стану у тверду фазу, що дозволяє його зібрати і підготувати до подальшої обробки — сушіння, очищення та фасування. В розчині РНВННх перебуває в молекулярно розчиненому вигляді, і без осадження неможливо отримати продукт у придатній для використання формі (Chen, Zhang, Park, & Lee, 2001).

Для осадження використовують неполярні аліфатичні розчинники, такі як гексан або гептан. Ці речовини змішуються з основним розчинником полімеру (етилацетатом), але при цьому РНВННх у них практично не розчиняється. Додавання такого осаджувача суттєво знижує розчинність полімеру в суміші, викликаючи коагуляцію молекул полімеру і формування твердого осаду. Таким чином відбувається фізичне відокремлення полімеру від розчинника і домішок, які залишаються в рідкій фазі (Chen, Zhang, Park, & Lee, 2001).

Вибір гексану чи гептану як осаджувача обумовлений їх хорошою сумісністю з етилацетатом, низькою токсичністю, доступністю та економічністю в промислових масштабах. Крім того, ці речовини дозволяють отримати полімер високої чистоти, адже більшість небажаних компонентів, таких як білки чи ліпіди, залишаються у розчині і не осаджуються разом з полімером (Yabueng, & Napathorn, 2018).

Для промислового осадження РНВННх зазвичай краще обрати гексан через його нижчу вартість, легшу регенерацію та більш широке застосування у виробничих процесах. Легкість його перегонки економить енергоресурси, що особливо важливо при великих обсягах виробництва (Yabueng, & Napathorn, 2018).

Гептан може бути доцільним, якщо технологічні умови потребують менших втрат розчинника через випаровування або якщо обладнання краще адаптоване для роботи з вищою температурою кипіння (Yabueng, & Napathorn, 2018).

Важливо, щоб співвідношення між розчинником і осаджувачем було підібране оптимально — зазвичай на одну частину розчинника додають кілька частин осаджувача. Процес осадження зазвичай проводять при кімнатній температурі, що дозволяє уникнути розчинення полімеру і забезпечити його максимальне виділення у твердому вигляді (Yabueng, & Napathorn, 2018).

Після формування осаду його збирають за допомогою фільтр-пресів, а потім промивають розчинниками, наприклад, етанолом, щоб видалити залишкові сліди основного розчинника та осаджувача, а також домішки. Промивка етанолом суттєво підвищує чистоту кінцевого продукту і готує його до наступного етапу сушіння (Chen, Zhang, Park, & Lee, 2001).

Тож, осадження виконуємо гексаном, після – відокремлюємо фільтрацією, а потім додатково очищаємо етанолом.

5.1.7. Обґрунтування сушіння очищеного полігідроксиалканоату

Після завершення етапів екстракції, фільтрування, центрифугування, осадження та промивання полімеру РНВННх отримують у вигляді вологої, пастоподібної або порошкоподібної маси. Для подальшого зберігання, фасування, транспортування та використання необхідно видалити залишкову вологу і розчинники, що залишилися в полімері. Цей технологічний крок — сушіння — є заключною і надзвичайно важливою стадією очищення (Chen, Zhang, Park, & Lee, 2001).

Сушіння дозволяє одержати сухий, стабільний за хімічними та фізичними властивостями продукт із підвищеною терміном зберігання і кращою оброблюваністю. Волога в полімері може спричиняти гідроліз, змінювати механічні властивості, а залишки розчинників можуть бути небезпечними при подальшому використанні.

В промислових умовах сушіння РНВННх здійснюють за допомогою вакуумних сушарок або роторних сушарок із контролем температури і тиску. Вакуумне сушіння має перевагу, оскільки знижує температуру випаровування вологи і розчинників, що мінімізує термічне руйнування полімеру. Це особливо важливо, оскільки РНВННх є термочутливим біополімером і може втрачати властивості при нагріванні вище певної температури (Chen, Zhang, Park, & Lee, 2001).

Завдяки ретельному сушінню до залишкової вологості, яка зазвичай не перевищує 1-2%, отримують стабільний порошок або гранули полімеру, що зручні для зберігання і подальшого використання у виробництві біорозкладних матеріалів.

Оскільки про сушіння було більш детально описано в п.2.3. додатково прописувати цю стадію недоцільно. Передбачаємо вакуум-випарну установку для сушіння РНВННх.

На рис.5.1. показано узагальнену схему виділення та очищення РНВННх.



Рис.5.1. Схема виділення та очищення РНВННх

5.2. Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіях

Вихідні дані:

1. Об'єм культуральної рідини з однієї ферментації ($V_{кр}$) = 2705 л;

2. Концентрація біомаси *C. necator* MF01/pBPP-ccr_{Me}J_{Ac}-emd в культуральній рідині ($C_{біом}$) = $109,5 \pm 0,30$ г/л (показник абсолютно сухої біомаси, також, варто зазначити, що в статті не вираховували концентрацію біомаси без ПГА, а враховували вагу полімеру разом з біомасою, тому, реальний клітинний залишок – $109,5 - 85,2 = 24,3$ г/л АСБ);

3. Концентрація РНВННх в культуральній рідині ($C_{ПГА}$) = $85,2 \pm 0,62$ г/л;

3. Втрати на стадіях виділення і очищення = 20 %;

Теоретична кількість РНВННх, яку можна отримати із 2705 л культуральної рідини становить: $85,2 * 2705 \approx 230,47$ кг. Враховуючи 20% втрат на відділення і очищення молочної кислоти з культуральної рідини, отримаємо $230,47 * 0,8 \approx 184,37$ кг РНВННх. Розподіл втрат по усім стадіям виділення і очищення наведено в таблиці 5.3.

Таблиця 5.3

Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіям

№ п/п	Назва стадії (операції)	Матеріальні потоки на стадії	Кількість по стадіям			Необхідне обладнання
			Надійшло	Втрати (разом 20 %)	Вийшло	
1	2	3	4	5	6	7
ТП 1 Зберігання культуральної рідини						
1	ТП 1 Зберігання культуральної рідини	Культуральна рідина	2705 л	-	-	Збірник культуральної рідини об'ємом 3 м ³
ТП 2 Осадження біомаси в культуральній рідині						
2	ТП 2 Осадження біомаси в культуральній рідині	Культуральна рідина	2705 л	-	-	Збірник культуральної рідини об'ємом 3 м ³
		Na ₂ HPO ₄ (1% від об'єму)	27,05 кг	-	-	
		CaCl ₂ (1% від об'єму)	27,05 кг	-	-	

		Поліакриламід (100 ppm від об'єму)	0,27 кг	-	-	
		Рідина з клітинним осадом	-	-	2759,37 л	До промислового фільтр-пресу продуктивністю 3 м ³ /год
ТП 3 Відокремлення біомаси від рідкої фази						
3	ТП 3 Відокремлення біомаси від рідкої фази	Рідина з клітинним осадом	2759,37 л	-	-	В промисловому фільтр-пресі продуктивністю 3 м ³ /год
		Пермеат	-	-	1477,2 л	На знешкодження
		Фільтрат (з врахуванням, що АСБ становить 24,3 г/л (5% вологості), для розрахунків приймаємо вологість- 40%, оскільки відокремлюємо на фільтр-пресі)	756,32 кг (1. вологої біомаси: $(24,3 \cdot 40/5) \cdot 2705 = 525,85$ 2. ПГА: $85,2 \cdot 2705 = 230,47$)	2,5% (756,32-2,5%)	≈737,4 кг	До роторної вакуум-сушильної установки
ТП 4 Сушіння біомаси						
4	ТП 4 Сушіння біомаси	Фільтрат	737,4 кг	-	-	На роторній вакуум-сушильній установці
		Суша біомаса (сушіння до 5% маси)	289,5 кг (70% від об'єму припадає на вологу біомасу: $737,4 \cdot 0,7 = 516,18$ кг; $516,18 \cdot 5/40 = 64,5$ кг; $1250,1 - 1025,1 = 225$ кг; $64,5 + 225 = 289,5$)	2,5% (289,5-2,5%)	≈282,3 кг	Вивантаження на промисловий молотковий подрібнювач
ТП 5 Подрібнення біомаси						
5	ТП 5 Подрібнення біомаси	Суша біомаса	282,3 кг	-	-	Промисловий молотковий подрібнювач

		Подрібнена біомаса	282,3 кг	2,5% (282,3 - 2,5%)	≈275,2 кг	До реактору-екстрактору об'ємом 5 м ³
ТП 6 Вилучення полі(3-гідроксибутират-ко-3-гідроксигексаноату) з біомаси						
6	ТП 6 Вилучення полі(3-гідроксибутират-ко-3-гідроксигексаноату) з біомаси	Подрібнена біомаса	275,2 кг	-	-	В реакторі-екстракторі об'ємом 5 м ³
		Етилацетат (з розрахунку, що на 500 кг – витрачається 5 м ³)	2 752 л	-	-	
		Суспензія клітин та етилацетату	-	-	3027,2 л	До промислової фільтраційної установки продуктивністю 3 м ³ /год
ТП 7 Відокремлення клітинних залишків						
ТП 7.1. Фільтрування клітинної суспензії						
7	ТП 7.1. Фільтрування клітинної суспензії	Суспензія клітин та етилацетату	3027,2 л	-	-	На промисловій фільтраційній установці продуктивністю 3 м ³ /год
		Фільтрат клітинних залишків (з врахуванням, що на суху біомасу припадає лише 22% від клітини)	968 кг (275,2*0,22=60,5 кг; з врахуванням вологості: 60,5*80/5=968 кг)	-	968 кг	На знешкодження
		Етилацетатний пермеат	2059,2 л (3027,2-968)	5% (2059,2-5%)	≈1956,2 л	До реактору об'ємом 2,5 м ³
ТП 7.2. Центрифугування етилацетатного пермеату для остаточного вилучення твердих домішок						
8	ТП 7.2. Центрифугування етилацетатного пермеату для остаточного вилучення твердих домішок	Етилацетатний пермеат	1956,2 л	-	-	На промислову проточну центрифугу продуктивністю 2 м ³ /год
		Твердий залишок (припускаємо 0,1%)	1,9 кг (1956,2*0,001)	-	1,9 кг	На знешкодження

		Фугат	1954,3 л (1956,2 - 1,9)	.*	1954,3 л	До реактору об'ємом 7 м ³
Примітка: оскільки на стадії ТП 7.2 твердий залишок складає мізер по відношенню до об'ємів виробництва, вважаємо, що втрат на цій стадії не відбувається						
ТП 8. Осадження полі(3-гідроксибутират-ко-3-гідроксигексаноату)						
9	ТП 8. Осадження полі(3-гідроксибутират-ко-3-гідроксигексаноату)	Фугат	1954,3 л	-	-	В реакторі об'ємом 7 м ³
		Гексан (з врахуванням, що для виробництва з 20 м ³ ферментер використовується 15 м ³ гексану)	3750 л (5000*1500/20000=2250 л)	-	-	
		Гексанова-етилацетатна суміш з осадженим ПГА	-	-	5704,3 л (1954,3 +3750)	До промислового фільтр-пресу продуктивністю 5 м ³ /год
ТП 9. Відокремлення полі(3-гідроксибутират-ко-3-гідроксигексаноату) на фільтр-пресі						
10	ТП 9. Відокремлення полі(3-гідроксибутират-ко-3-гідроксигексаноату) на фільтр-пресі	Гексанова-етилацетатна суміш з осадженим ПГА	5704,3 л	-	-	На промислового фільтр-пресі продуктивністю 5 м ³ /год
		Гексаново-етилацетатний пермеат	-	-	-	На регенерацію
		Відокремлений РНВННх	-	2,5% (230,47-15%)	≈195,9 кг	До реактору об'ємом 800 л
ТП 10. Промивання полі(3-гідроксибутират-ко-3-гідроксигексаноату) етанолом						
ТП 10.1 Додавання етанолу до полі(3-гідроксибутират-ко-3-гідроксигексаноату)						
	ТП 10.1 Додавання етанолу до полі(3-гідроксибутират-ко-3-гідроксигексаноату)	Відокремлений РНВННх	195,9 кг			В реакторі об'ємом 800 л
		96-% етанол (промивання 3 цикли, на один цикл – 400 л)	400 л (загально 400*3=1200 л)			
		Етанольна суспензія РНВННх	-	-	595,9 л (195,9+400)	До проточної центрифуги продуктивністю 600 л/год

ТП 10.2. Центрифугування етанольної суспензії						
ТП 10.2. Центрифугування етанольної суспензії	Етанольна суспензія РНВННх	595,9 л				В проточній центрифугі об'ємом 600 л/год
	Відпрацьований етанол	400 л (за один цикл)	-		400 л (загалом 1200 л)	На регенерацію
	Очищений РНВННх	-	2,5% (230,47-17,5%)		190,1 кг	До вакуум-випарної установки об'ємом завантаження 200 л
ТП 11. Сушіння полі(3-гідроксибутират-ко-3-гідроксигексаноату)						
ТП 11. Сушіння полі(3-гідроксибутират-ко-3-гідроксигексаноату)	Очищений РНВННх	190,1 кг	-		-	У вакуум-випарній установці об'ємом завантаження 200 л
	Сухий очищений РНВННх	-	2,5% (230,47-20%)		184,37 кг	Пластини ПГА на склад

5.3. Специфікація обладнання

Таблиця 5.4.

Специфікація обладнання для виробництва субстанції ПГА

Позиція	Найменування	Кількість	Технічна характеристика
З-1	Збірник для зберігання культуральної рідини	1	Реактор моделі 23042701xinxiang3000L. Номінальний об'єм – 3000 л. Створений зі сталі нержавіючої типу SS304, SS316L. Сертифікація ASME-U CE-PED EAC-Coc Dosh Saber ISO. Оберти мішалки до 8000 об/хв. Габарити не наведено ¹
Д-2	Ваговий дозатор	1	Шнековий дозатор сипких матеріалів ДВС-301-50-3. Зважування до 50 кг. Висока точність (клас 0,5) ²

Продовження табл.5.4.

Н-3 Н-9 Н-12 Н-20	Насос перистальтичний	4	Перистальтичний насос AS 25 VX. Продуктивність до 3 м ³ /год (періодичної дії). Робочий тиск: до 3 бар; Корпус насоса: алюмінієвий сплав; Ротор: алюмінієвий сплав ³
ФП-4	Фільтр-прес	1	Фільтр-прес ХУ200/1250-30U. Продуктивність до 3020 л/год. Загальна площа фільтрів – 200 м ² . Габарити (мм): 7745*1750*1565 ⁴
ВР-5	Роторна випарна установка	1	Роторна випарна установка МВ-1000. Завантаження до 1 м ³ . Габарити (мм): 3800*1200*1600 ⁵
МП-6	Промисловий молотковий подрібнювач	1	Промисловий молотковий подрібнювач моделі УНМ56*36. Швидкість ротору 2950 об/хв. Продуктивність подрібнення до мілкої фракції від 0,5 до 1 т/год. Габарити (мм): 560*360 ⁶
Р-7	Реактор для екстрагування	1	Реактор моделі 5000L. Номінальний об'єм – 5000 л. Створений зі сталі нержавіючої типу SS304, SS316L. Сертифікація CE,ISO. Оснащений сорочкою. Габарити не наведено ⁷
Д-8 Д-15 Д-19	Об'ємно-ваговий дозатор	3	Дозатор об'ємно-поршневого типу Н1-АРП-1М. Продуктивність 6000 л/год ⁸
ФП-10	Промислова фільтрувальна установка	1	Промислова фільтрувальна установка GYR-3000LPN. Продуктивність 3000 л/год. Може на замовлення оснащуватись картриджами з металевих сіток. Робочий тиск – 16 кг/см ² ⁹
Р-11	Реактор для зберігання етилацетатного розчину перед центрифугуванням	1	Реактор ZR-2500. Номінальний об'єм – 2500 л. Створений зі сталі нержавіючої типу SS304, SS316L. Оснащений мішалкою та подвійною сорочкою. Габарити (мм): 1800*3400 ¹⁰
Ц-13	Центрифуга проточного типу	1	Центрифуга проточного типу LAB TC-Q120. Продуктивність – 2000 л/год. Максимальна швидкість ротора – 15000 об/хв. Габарити (мм): 900*550*1605 ¹¹
Р-14	Реактор для осадження ПГА	1	Реактор моделі LPMIE 7000L. Номінальний об'єм – 7000 л. Створений зі сталі нержавіючої типу SS304, SS316L. Оснащений мішалкою та подвійною сорочкою. Габарити не наведено ¹²
Н-16	Перистальтичний насос	1	Перистальтичний насос PTL 9. Продуктивність до 5 м ³ /год ¹³

Закінчення табл.5.4.

ФП-17	Фільтр-прес	1	Фільтр-прес ХУ220/1500-40U. Продуктивність до 3020 л/год. Загальна площа фільтрів – 200 м ² . Габарити (мм): 7745*1750*1565 ⁴
Р-18	Реактор для промивання ПГА	1	Реактор ZR-FV-800. Номінальний об'єм – 800 л. Створений зі сталі нержавіючої типу SS304, SS316L. Оснащений мішалкою та подвійною сорочкою. Габарити (мм): 1000*2100 ¹⁴
Ц-21	Центрифуга проточного типу	1	Центрифуга проточного типу LAB TC-Q70. Продуктивність – 500 л/год. Максимальна швидкість ротора – 15700 об/хв. Габарити (мм): 760*450*1125 ¹¹
ВС-1	Вакуум-сушильна шафа	1	Вакуум-сушильна шафа моделі DZF 6210. Об'єм завантаження 215 л. Виготовлена зі сталі нержавіючої типу SS304. Габарити (мм): 560*600*640. Робоча температура +5~40°C ¹⁵

Примітка: 1 - <https://chinareactorwhgcm.en.made-in-china.com/product/KtorxHZMAvWI/China-3000L-Jacketed-Electric-Heating-Stirred-Chemical-Tank-Reactor-Polyester-Resin-Stainless-Steel-Reaction-Kettle.html>, 2 - <https://sweda.com.ua/produksiya/shnekovyi-dozator/>, 3-
https://www.etatron.com.ua/chemical_pump/peristaltic_pump/as/as_vx/, 4 -
https://www.alibaba.com/product-detail/Export-Quality-Automatic-Filter-Press-for_1601371087316.html?spm=a2700.galleryofferlist.normal_offer.d_title.348d13a0wIHJOX, 5 -
https://www.alibaba.com/product-detail/MB-Mobile-small-rice-grain-paddy_1600949786072.html?spm=a2700.7724857.0.0.585340ffLFvFU0, 6 -
https://www.alibaba.com/product-detail/YONGLI-1-10ton-hour-Corn-Hammer_1601386146074.html?spm=a2700.galleryofferlist.normal_offer.d_title.739013a0viGt1j, 7 -
https://www.alibaba.com/product-detail/JNBAN-1000L-2000L-5000L-stirred-vessel_1600623195192.html?spm=a2700.7724857.0.0.4f375f21RwVwdt, 8 - https://pk-nadiya.all.biz/uk/dozator-obemno-porshnevogo-typu-n1-arp-1m-g15156039?utm_currency=UAH&utm_source=google&utm_medium=cpc&utm_campaign=shopping_ua_personal&utm_content=5586&gclid=CjwKCAjwmenCBhA4EiwAtVjzmu-nMhr1_n9PYylzmFdIKH_pcPX1GrMEY13QvRsIFWPMQab4G6q1jRoC-toQAvD_BwE, 9 -
<https://gyrwater.en.made-in-china.com/product/CTwrSIIoijkZ/China-3000L-H-Capacity-Multi-Stage-Reverse-Osmosis-RO-Treatment-System.html>, 10 - https://www.alibaba.com/product-detail/2500l-3000l-30hl-Quality-Guaranteed-Laboratory_1600937471780.html?spm=a2700.7724857.0.0.222a6b5d6ZsiBj, 11 -
https://www.alibaba.com/product-detail/Continuous-Flow-Tubular-Centrifuge-Tube-separator_1601050835904.html?spm=a2700.7724857.0.0.5eee31d1nM1Atr, 12 -
<https://www.alibaba.com/product-detail/LPMIE-7000L-Jacketed-Stainless-Steel-Chemical-1601029302168.html>, 13 - https://tapflo.ua/images/tapflo_hose_pumps_ua.pdf, 14 -
https://www.alibaba.com/product-detail/Stainless-Steel-500L-800L-1000L-Cooling_1601404226936.html?spm=a2700.7724857.0.0.3e2d626cRaBpwB, 15 -
https://www.alibaba.com/product-detail/DZF-6210-Vacuum-Drying-Oven-DZF_60667433664.html

РОЗДІЛ 6

ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ВИДІЛЕННЯ ТА ОЧИЩЕННЯ ПОЛІГІДРОКСИАЛКАНОАТУ

ТП 1. Зберігання культуральної рідини

Культуральну рідину після виробничого біосинтезу зберігають в збірнику (З-1) при 4 ± 1 °С до початку процесу виділення та очищення РНВННх.

ТП 2. Осадження біомаси в культуральній рідині

На ваговому дозаторі (Д-2) зважують 27,05 кг Na_2HPO_4 , 27,05 кг CaCl_2 та 0,27 кг поліакриламід. Вмикається мішалка на швидкості 200 об/хв протягом 30 хвилин. Далі, культуральній рідині дають постояти близько 2 годин для преципітації клітинної маси.

ТП 3. Відокремлення біомаси від рідкої фази

Суспензію передають до фільтр-пресу (ФП-4) за допомогою перистальтичного насоса (Н-3). Суспензія проходить крізь рамкові фільтри, тим самим залишаючи клітини на фільтрі, а супернатант передається на утилізацію. Тривалість процесу близько 1 години. З фільтрів біомаса знімається автоматично за допомогою вібрації та вивантажується знизу фільтр-пресу в металеві переносні ємності (на колесах). Відокремлена біомаса передається на наступну стадію.

ТП 4. Сушіння біомаси

Біомасу вручну завантажують на вакуум-випарну установку роторного тиру (ВР-5). Встановлюється температура в 40 °С. Тривалість сушіння – 12 годин. Після сушіння біомасу вручну вивантажують в металеві переносні ємності (на колесах) та передають на наступну стадію.

ТП 5. Подрібнення біомаси

Суху біомасу вивантажують в бункер промислового молоткового подрібнювача (МП-6). Встановлюється швидкість робочого вала – 2950 об/хв.

					НУХТ БТЕК 02.01.04 КР ПЗ		
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Косовець І.Р.			РОЗДІЛ 6		
Перевір.		Стабніков В.П.			ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ВИДІЛЕННЯ ТА ОЧИЩЕННЯ ПОЛІГІДРОКСИАЛКАНОАТУ		
Реценз.					Лім.	Арк.	Аркунів
Н. Контр.						84	122
Затверд.		Стабніков В.П.			Кафедра БТМ		

Тривалість подрібнення – 1 година. Одержаний порошок вивантажують в металеві переносні ємності (на колесах) та передають на наступну стадію.

ТП 6. Вилучення полі(3-гідроксибутират-ко-3-гідроксигексаноату) з біомаси

Сушу біомасу вивантажують до реактора (Р-7) об'ємом 5 м³. За допомогою об'ємно-вагового дозатора (Д-8) до реактора доливають 2 752 л етилацетату. Встановлюється режим перемішування в 100 об/хв, температура 60 °С. Тривалість процесу екстрагування – 2 години.

ТП 7. Відокремлення клітинних залишків

ТП 7.1. Фільтрування клітинної суспензії

За допомогою перистальтичного насосу (Н-9) етилацетатна суспензія подається до промислової фільтрувальної установки (ФП-10) з фільтрами з металевих сіток діаметром отворів в 2 мкм. Тривалість фільтрування – 1 година. Тверда фракція передається на утилізацію. Пермеат під тиском передається до реактору (Р-11).

ТП 7.2. Центрифугування етилацетатного пермеату для остаточного вилучення твердих домішок

За допомогою перистальтичного насосу (Н-12) етилацетатний пермеат передається до проточної центрифуги (Ц-13). Встановлюється швидкість ротора 10000 об/хв. Тривалість центрифугування – 1 година. Фугат відцентровими силами передається до реактору (Р-14) об'ємом 7 м³. Твердий залишок передається на утилізацію.

ТП 8. Осадження полі(3-гідроксибутират-ко-3-гідроксигексаноату)

За допомогою об'ємно-вагового дозатору (Д-15) до реактору (Р-14) вносять 2250 л гексану. Вмикається мішалка на швидкості 200 об/хв протягом 30 хвилин. Далі, суспензії дають постояти близько 2 годин для преципітації полігідроксиалканоату.

*ТП 9. Відокремлення полі(3-гідроксибутират-ко-3-гідроксигексаноату)
на фільтр-пресі*

Суспензію передають до фільтр-пресу (ФП-17) за допомогою перистальтичного насосу (Н-16). Суспензія проходить крізь рамкові фільтри, тим самим залишаючи осад полігідроксиалканоату на фільтрі, а супернатант передається на регенерацію. Тривалість процесу близько 1 години. З фільтрів ПГА знімається автоматично за допомогою вібрації та вивантажується знизу фільтр-пресу в металеві переносні ємності (на колесах). Відокремлений ПГА передається на наступну стадію.

*ТП 10. Промивання полі(3-гідроксибутират-ко-3-гідроксигексаноату)
етанолом*

ТП 10.1. Додавання етанолу до полі(3-гідроксибутират-ко-3-гідроксигексаноату)

ПГА вносять до реактору (Р-18) об'ємом 800 л. Далі, за допомогою об'ємно-вагового дозатора (Д-19) вносять 400 л 96-% етанолу. Вмикається мішалка на швидкості 200 об/хв протягом 30 хвилин. Далі, суспензію передають на наступну стадію за допомогою перистальтичного насосу (Н-20).

ТП 10.2. Центрифугування етанольної суспензії

Етанольна суспензія передається до проточної центрифуги (Ц-21). Встановлюється швидкість ротора 10000 об/хв. Тривалість центрифугування – 1 година. Відпрацьований етанол передають на регенерацію. Промитий ПГА вручну вивантажують та передають до ТП 10.1 на повторення. Кількість циклів – 3. Після цього, промитий ПГА вивантажують на деко та передають на наступну стадію.

ТП 11. Сушіння полі(3-гідроксибутират-ко-3-гідроксигексаноату)

Деко з ПГА ставлять до вакуум-сушильної шафи (ВС-22). Встановлюється температура в 40 °С. Тривалість сушіння – 12 годин. Після сушіння чекають, коли пластини ПГА охолонуть. Далі, їх переносять на зберігання на склад.

РОЗДІЛ 7

ТЕХНОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ОТРИМАННЯ АГРОПЛІВКИ НА ОСНОВІ ПОЛІГІДРОКСИАЛКАНОАТУ

7.1. Обґрунтування вибору товарної форми випуску полігидроксиалканоату

Для практичного використання біополімерів на основі полігидроксиалканоатів (ПГА) доцільно обирати таку товарну форму, яка забезпечує не лише зручність застосування, але й стабільність властивостей матеріалу упродовж експлуатації. З огляду на це, у межах роботи була розроблена агроплівка для мульчування на основі полі(3-гідроксибутірат-ко-3-гідроксигексаноату) (РНВННх), модифікованого сажистим вуглецем у кількості 0,5–2 % (мас.).

Вибір саме плівкової форми пояснюється низкою технологічних та агрономічних переваг:

1. Функціональність у сільському господарстві. Мульчувальні плівки ефективно зменшують випаровування вологи з ґрунту, пригнічують ріст бур'янів, регулюють тепловий режим у кореневій зоні та сприяють рівномірному дозріванню рослин (Ma, Wang, Ma, Zhang, Tian, & He, 2025).
2. Біорозкладність матеріалу. РНВННх є біополіестером мікробного походження, який природно розкладається у ґрунті до вуглекислого газу, води та біомаси під дією мікроорганізмів, не залишаючи токсичних залишків. Це усуває потребу у збиранні відпрацьованих плівок, що є проблемним для традиційних поліетиленових аналогів (Meereboer, Misra, & Mohanty, 2020).
3. Механічна придатність. Кополімер РНВННх має вищу еластичність і ударну в'язкість, ніж гомополімер РНВ (Pan, Liang, Nakamura,

					<i>НУХТ БТЕК 02.01.04 КР ПЗ</i>			
<i>Змн.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розроб.</i>		<i>Косовець І.Р.</i>			<i>РОЗДІЛ 7 ТЕХНОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ОТРИМАННЯ АГРОПЛІВКИ НА ОСНОВІ ПОЛІГІДРОКСИАЛКАНОАТУ</i>	<i>Лім.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Перевір.</i>		<i>Стабніков В.П.</i>					87	122
<i>Реценз.</i>						<i>Кафедра БТМ</i>		
<i>Н. Контр.</i>								
<i>Затверд.</i>		<i>Стабніков В.П.</i>						

Miyagawa, & Inoue, 2009), що дозволяє формувати тонкі, але міцні плівки, придатні для рулонного пакування та машинної укладки.

4. Модифікація сажистим вуглецем. Додавання 0,5–2 % сажі забезпечує (Harada et al., 2016;

<https://www.specialchem.com/polymer-additives/guide/selecting-carbon-black-for-plastics>):

- підвищення оптичної щільності (захист ґрунту від надмірного прогрівання та росту бур'янів);
- покращення термостійкості та стійкості до фотодеструкції під дією УФ-випромінювання;
- антистатичний ефект і часткове підвищення міцності при розтягуванні.

Оптимальна концентрація сажистого вуглецю в композиції визначена на рівні 1 % (мас.). За даними літератури саме така добавка забезпечує найкраще співвідношення між механічними, оптичними та технологічними властивостями плівки. При нижчому вмісті (0,5 %) матеріал має недостатню оптичну щільність і слабкий захист від ультрафіолетового випромінювання, що призводить до швидшої фотодеструкції. Підвищення концентрації до 2 % спричиняє надмірне зростання жорсткості та зниження еластичності, ускладнюючи процес формування плівки екструзійним методом. Додавання саме 1 % сажистого вуглецю забезпечує рівномірний розподіл наповнювача в матриці РНВННх, стабільну структуру плівки, достатню світлонепроникність і підвищену стійкість до термо- та фотодеструкції без втрати гнучкості (<https://www.specialchem.com/polymer-additives/guide/selecting-carbon-black-for-plastics>).

З урахуванням поєднання біорозкладності, механічної міцності та екологічної безпеки, саме агроплівка є оптимальною товарною формою для промислового застосування полігідроксиалканоатів у сільському господарстві.

Такий тип продукції має значний ринковий потенціал у напрямі заміщення поліетиленових мульчувальних плівок на біорозкладні аналоги.

Для збереження споживчих властивостей біорозкладної агроплівки на основі РНВННх обрано рулонну форму пакування із захисною зовнішньою обгорткою. Такий спосіб є технологічно доцільним і відповідає стандартним методам транспортування та використання мульчувальних матеріалів у сільському господарстві.

Плівку після екструзії та охолодження намотують у рулони шириною 1,2–1,5 м і довжиною 100–200 м. Кожен рулон обгортають біорозкладною або вторинною поліетиленовою плівкою, що запобігає потраплянню вологи, пилу та механічних пошкоджень під час зберігання. За потреби додають вкладиш із крафт-паперу для поглинання залишкової вологи.

Маркування здійснюють на етикетці з нанесенням таких відомостей:

- назва продукту — «Біорозкладна агроплівка для мульчування на основі РНВННх»;
- товщина (20 мкм), ширина (1,5 м) та довжина рулону (200 м);
- масова частка сажистого вуглецю (1 %);
- умови зберігання (сухе приміщення, температура 5–25 °С, без прямого сонячного світла);
- термін придатності — не менше 12 місяців від дати виготовлення.

Обраний вид упаковки забезпечує зручність транспортування, захист від передчасної деградації полімеру та стабільність експлуатаційних властивостей плівки протягом усього терміну зберігання.



Рис.7.1. Кінцевий вигляд готового рулону

(<https://agreemarket.com.ua/uk/agroplenki-uk/plenka-dlya-mulchirovaniya-uk/plivka-dlja-mulchuvannja-chorna-planeta-plastik-40-mkm-1200-x-500-m-36-misjaciv-2307755-uk.html>)

7.2. Обґрунтування технологічних особливостей одержання плівки для мульчування

Отримання агроплівки на основі полігідроксиалканоату (РНВННх) із добавкою сажистого вуглецю передбачає послідовне термічне з'єднання компонентів і формування однорідного полімерного розплаву. Попередньо підготовлені гранули або пластини РНВННх завантажують у плавильний екструдер, де за температури 160–175 °С полімер переходить у в'язкопластичний стан. У розплав поступово вводять попередньо диспергований сажистий вуглець у концентрації 1 % мас., забезпечуючи рівномірний розподіл наповнювача шляхом інтенсивного механічного перемішування.

Отриманий гомогенізований розплав спрямовують безпосередньо до вузла плівкоутворення. На цьому етапі полімерна маса проходить через щільну головку плівкоутворювальної машини, де під дією температури та тиску формується тонкий шар матеріалу. В процесі розкалювання відбувається остаточне видалення вологи, що залишилася після введення сажі, а також стабілізація структури полімерної матриці. Після виходу з екструдера плівка охолоджується на валках, набуваючи необхідної товщини, механічної міцності й однорідності кольору.

7.3. Специфікація обладнання

Специфікацію обладнання, зображеного на апаратурній схемі (див. *графічна частина*), наведено у табл. 7.1.

Таблиця 7.1.

Специфікація обладнання на виробництво агроплівки

Позиція	Найменування	Кількість	Технічна характеристика
1	2	3	4
Д-1	Ваговий дозатор	1	Ваговий дискретний дозатор-виратомір. Продуктивність до 20 тон/год. Похибка – 1%. Об'єм бункеру – до 250 л ¹
ПД-2	Подрібнювач	1	Подрібнювач для пластмас AMG-260M. Швидкість ротора 375 об/хв. Комплектація – 3 ріжучих та 2 фіксованих ножі. Габарити (мм): 1650x600x1270 ²
АСП-3	Автоматизована система плівкоутворення	1	Автоматизована система плівкоутворення TS-ABA1500. Продуктивність – 100 кг/год. Швидкість мішалки 15-150 об/хв. Габарити (мм): 7000x4800x7500 ³
ПМ-4	Пакувальна машина	1	Пакувальна машина АМТЕС SLV S10 M. Продуктивність до 10 рулонів/хв. Габарити (мм): 500x300x330 ⁴
ЕМ-5	Етикувальна машина	1	Етикувальна машина SmartLab-3000. Продуктивність до 3000 шт/год. Габарити (мм): 2000x1600x1500 ⁵

Примітка: 1 - https://www.vostok.dp.ua/ukr/catalog/scale/weighing_batcher-monorail_scales/product.html?id=4116, 2 - https://slavles.in.ua/ru/podribniuvach-plastyku-amg-260m-22-kvt/?gad_source=1&gad_campaignid=23018402780&gbraid=0AAAAAo7mQf2x5qZefQ-rvhfXMZMMNsAYp&gclid=Cj0KCQjwvJHIBhCgARIsAEQnWlCic1H39Kq4yQVNBHBoNDHARcSlcmxC5SnrND0FDcpK9x0ofkPUZX0aArpFEALw_wcB, 3 - <https://www.tsmach.com/productdetail/aba-co-extrusion-blow-molding-machine>, 4 - <https://www.amtec-machines.com/en/amtec-slv-s10-m-a270>, 5 - https://prom.ua/p1507856000-etiketirovochnaya-mashina-smartlab.html?utm_source=google_product&utm_medium=cpc&utm_content=pla&utm_campaign=KT_cpc_1_5297199152&gad_source=1&gad_campaignid=20983226771&gbraid=0AAAAADBxJSWdEZ7mcdhrenUGxKeSYmY4d&gclid=Cj0KCQjwvJHIBhCgARIsAEQnWlBY8NB7jiCFOH5nT0HG1iTmfIHyo2rIDF94t4VjV9MMvTTUTGTQ1RgaAkjGEALw_wcB

7.4. Опис технологічного процесу

ТП 1. Подрібнення пластин полігідроксиалканоату

На ваговому дозаторі (Д-1) зважують 184,37 кг РНВННх та завантажують у подрібнювач (ПД-2). Пластини подрібнюють до гранул або пластівців розміром близько 5 мм. Тривалість подрібнення — 1 година.

ТП 2. Одержання готової плівки на основі полігідроксиалканоату

ТП 2.1. Поєднання полігідроксиалканоату з сажистим вуглецем

На технічних вагах зважують 1,84 кг сажистого вуглецю (1 % мас. від полімеру). Усі подальші процеси відбуваються на автоматизованій системі плівкоутворення (Blown Film Extruder Machine, АСП-3).

У бункер плавильного екструдера завантажують подрібнений РНВННх і сажистий вуглець. У бункері підтримується постійне перемішування для рівномірного розподілу компонентів. Далі суміш надходить до зони плавлення екструдера. Процес плавлення відбувається при температурі 160 °С і триває 2 години.

ТП 2.2. Одержання первинної плівки з полігідроксиалканоату

Розплавлена полімерна маса, що містить сажистий вуглець, подається під тиском у формувальну головку, де за допомогою компресора формується первинна плівка (blown film). Плівка піднімається у вигляді рукава та намотується на приймальний ролик. На цьому етапі товщина плівки є нерівномірною. Тривалість процесу — 2 години.

ТП 2.3. Одержання готової агроплівки

Первинна плівка проходить через щілинну головку плівкоутворювальної машини, де під дією температури 140 °С і тиску формується однорідний шар товщиною 20 мкм. Отриману плівку охолоджують і намотують у рулони шириною 1,5 м та довжиною 200 м. Кількість сформованих рулонів — 25 штук. Тривалість процесу — 2 години.

ПМФ 3. Пакування, маркування та фасування готової продукції

ПМФ 3.1. Пакування агроплівки в захисну упаковку

Рулони подаються на пакувальну машину (ПМ-4) та упаковуються в захисну плівку з поліетилену низької щільності. Тривалість процесу — 30 хвилин.

ПМФ 3.2. Етикетування готових рулонів

Запаковані рулони подаються до етикетувальної машини (ЕМ-5), де наносять інформацію:

- назва продукту — «Біорозкладна агроплівка для мульчування на основі РНВННх»;
- товщина (20 мкм), ширина (1,5 м) і довжина рулону (200 м);
- масова частка сажистого вуглецю (1 %);
- умови зберігання (сухе приміщення, температура 5–25 °С, без прямого сонячного світла);
- термін придатності — не менше 12 місяців від дати виготовлення.

Тривалість – 10 хвилин.

ПМФ 3.3. Групове пакування рулонів

Готові рулони об'єднують у групи по 5 штук і вручну пакують у картонні коробки. На коробки наносять дату виготовлення та номер серії. Упаковані коробки передають на склад і зберігають до відвантаження готової продукції.

РОЗДІЛ 8

КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА

8.1. Контроль виробництва субстанції полігідроксиалканоату

Контроль готової субстанції РНВННх включає низку фізико-хімічних, хіміко-аналітичних та мікробіологічних випробувань, спрямованих на підтвердження відповідності субстанції встановленим вимогам до якості, чистоти, стабільності та ідентичності.

Зовнішній вигляд

Перш за все, оцінюють зовнішній вигляд субстанції: РНВННх у чистому вигляді повинен мати вигляд білого або слабо кремового порошку або гранул без сторонніх включень. У нашому випадку – це світло-біла з кремовим відтінком пластина. Для застосувань, де субстанція поєднується з барвниками або добавками (наприклад, у виробництві мульчуючих плівок), цей контроль доповнюється перевіркою рівномірності кольору та відсутності агломерації частинок (Le Delliou, 2021).

Ідентифікація

Ідентифікацію полімеру РНВННх проводять за допомогою інфрачервоної спектроскопії (ІЧ-спектроскопії), яка дозволяє виявити характерні функціональні групи. Основною ознакою є смуга поглинання карбонільної групи (C=O) в області $\sim 1720 \text{ см}^{-1}$, що вказує на наявність поліестерного зв'язку. Додаткові смуги в області $2850\text{--}2950 \text{ см}^{-1}$ відповідають алкільним групам (C–H). Спектр підтверджує як наявність полімеру РНВННх, так і відсутність сторонніх домішок (Yang et al., 2011).

Для підтвердження кополімерного складу РНВННх (полі(3-гідроксибутират-со-3-гідроксігексаноат)) застосовують протонну ($^1\text{H-NMR}$) або вуглецеву ($^{13}\text{C-NMR}$) ядерно-магнітну резонансну спектроскопію, зазвичай у розчині CDCl_3 (дейтерахлороформу) (Pramanik, Das, Rath, & Kundu, 2014).

					<i>НУХТ БТЕК 02.01.04 КР ПЗ</i>			
<i>Змн.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>	РОЗДІЛ 8 КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА	<i>Лім.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Розроб.</i>		<i>Косовець І.Р.</i>					94	122
<i>Перевір.</i>		<i>Стабніков В.П.</i>				<i>Кафедра БТМ</i>		
<i>Реценз.</i>								
<i>Н. Контр.</i>								
<i>Затверд.</i>		<i>Стабніков В.П.</i>						

У $^1\text{H-NMR}$ спектрі розчину РНВННх можна виявити характерні сигнали: для залишків 3-гідроксибутирату (ЗНВ) (Pramanik, Das, Rath, & Kundu, 2014):

- мультиплет при $\sim 5,2$ ppm (протон при асиметричному центрі $-\text{CH}$),
- подвійні триплети при $\sim 2,5$ ppm (метиленові групи $-\text{CH}_2-\text{CO}$),
- сигнали метильних груп ($\sim 1,2$ ppm $-\text{CH}_3$).

для залишків 3-гідроксигексаноату (ЗННх):

- сигнал метиленової групи біля етерного кисню ($\sim 4,1$ ppm),
- сигнали інших метиленових груп при $\sim 2,4-1,2$ ppm.

Інтегруючи площу під сигналами, що відповідають ЗНВ і ЗННх, можна кількісно визначити молярне співвідношення мономерів у полімері. Наприклад, відношення площі сигналів при $5,2$ ppm (ЗНВ) до $4,1$ ppm (ЗННх) дозволяє обчислити відсотковий вміст кожного компонента (Pramanik, Das, Rath, & Kundu, 2014).

$^{13}\text{C-NMR}$ спектр дозволяє точніше диференціювати карбонільні вуглеці ($-\text{COO}-$) ЗНВ і ЗННх, які мають резонансні сигнали приблизно в області $169-174$ ppm. Це забезпечує підтвердження структури та типу послідовності мономерів (блокова, випадкова тощо). Склад ЗННх має становити $10,1 \pm 0,693$ мол.% (Tanaka, Orita, & Fukui, 2025).

Молекулярна маса

Молекулярна маса та її розподіл для РНВННх визначаються методом гель-проникаючої хроматографії (GPC, або SEC — size exclusion chromatography), зазвичай з використанням хлороформу як елюенту. У цьому методі полімер розчиняють і пропускають через колонку, заповнену пористим гелем. Молекули розділяються за гідродинамічним об'ємом: великі проходять швидше, а малі затримуються в порах (Le Delliou, 2021).

Отримані дані обробляються для визначення середньозваженої (M_w), чисельно-середньої (M_n) молекулярної маси та індексу полідисперсності ($PDI = M_w/M_n$). Для РНВННх ці показники зазвичай становлять (Le Delliou, 2021):

M_w : від 200 000 до 800 000 Да (залежно від умов ферментації),

PDI : в межах 1,5–2,5.

Ці параметри важливі, оскільки впливають на механічні властивості, біорозкладність і технологічність полімеру.

Контроль термічних властивостей

Контроль термічних властивостей є важливим при оцінці якості субстанції: температура плавлення, температура склування, ступінь кристалічності та теплова стабільність визначаються методами DSC (диференціальна скануюча калориметрія) та TGA (термогравіметрія). РНВННх має знижену кристалічність порівняно з РНВ, що підвищує його еластичність, і це відображається в нижчій температурі плавлення (бл. 130–145 °С) (Le Delliou, 2021).

За допомогою DSC визначають такі параметри, як температура склування (T_g), температура плавлення (T_m), температура кристалізації (T_c) та ступінь кристалічності. Для РНВННх температура плавлення зазвичай становить 130–145 °С, що нижче, ніж у гомополімеру РНВ (~170 °С), завдяки включенню гнучкіших ННх-фрагментів. Температура склування зазвичай знаходиться в діапазоні –2°С до –5°С, що свідчить про високу еластичність полімеру (Le Delliou, 2021).

TGA використовується для визначення термічної стабільності та залишкової маси (наприклад, золи). Для РНВННх термічна деградація починається зазвичай при 260–280 °С, а масова втрата досягає піку при 290–320 °С. Це дозволяє оцінити, наскільки полімер придатний до термопереробки, і чи була проведена достатня очистка (наприклад, низький вміст залишкових клітинних залишків та каталізаторів) (Le Delliou, 2021).

Контроль залишкових домішок

Вміст залишкових розчинників (наприклад, етилацетату або хлороформу, якщо вони використовувалися в процесі очищення) визначається газовою хроматографією (ГХ). Зразок полімеру розчиняють або нагрівають у відповідному розчиннику, після чого леткі компоненти аналізуються в колонці з полярним або неполярним стаціонарним шаром (Tanaka, Orita, & Fukui, 2025).

Результати порівнюють із зовнішніми стандартами для кількісного визначення. Залишкові розчинники повинні бути або відсутні, або їхній вміст не повинен перевищувати допустимі ліміти, встановлені документом ICH Q3C (Guideline for Residual Solvents). Наприклад:

- Хлороформ (клас 2): не більше 60 ppm
- Етилацетат (клас 3): до 5000 ppm

Перевищення цих рівнів може вказувати на недостатню очистку або порушення процесу сушіння, що неприйнятно для медичних, фармацевтичних або харчових застосувань полімеру.

Крім того, проводиться контроль залишкової золи, що відображає вміст неорганічних домішок у готовій субстанції РНВНх. Для цього зразок полімеру спалюють у муфельній печі при температурі 550–600 °С до повного згоряння органічної фази. Залишок зважують, і його масу виражають у відсотках від маси вихідного зразка (Le Delliou, 2021).

Цей показник дозволяє оцінити ефективність стадії очищення від клітинного матеріалу, компонентів середовища або каталізаторів. У високоякісній субстанції вміст золи не повинен перевищувати 0,5%. Перевищення цього значення свідчить про недостатнє видалення домішок, що може негативно вплинути на термічні, механічні та біосумісні властивості полімеру.

Контроль вологості

Визначають також вологість субстанції, зазвичай методом висушування до сталої маси. Вміст води не повинен перевищувати 0,5–1,0 %, оскільки надмірна волога погіршує термічну стабільність полімеру (Le Delliou, 2021).

8.2. Методи контролю агроплівки на основі полігідроксиалканоату

Контроль якості агроплівки для мульчування на основі полігідроксиалканоату (РНВННх) з 1 % сажистого вуглецю проводиться на стадії після плівкоутворення та перед пакуванням. Метою контролю є підтвердження відповідності фізико-механічних і зовнішніх показників вимогам технічних умов на готовий продукт.

1. Визначення зовнішнього вигляду

Мета: оцінити рівномірність кольору, поверхні та відсутність дефектів.

Обладнання: оглядовий стіл з рівномірним освітленням (600–1000 лк), зразки плівки розміром 200×200 мм.

Методика: плівку розстеляють на білому фоні та оглядають неозброєним оком з відстані 30–40 см. Фіксують наявність тріщин, зморшок, включень, плям, смугастості, проколів або злипань.

Оцінка: поверхня має бути гладкою, рівномірно забарвленою в чорний колір, без дефектів. Допускається слабкий блиск і поодинокі поверхневі смуги, що не впливають на механічну міцність.

2. Визначення товщини плівки (ДСТУ ISO 2808 «Визначення товщини плівки»),

<https://uscc.ua/uploads/page/images/normativnye%20dokumenty/dstu/vigotovlennya-mk-mizhнародna-gilka-standarty/111-dstu-iso-2808-2019-farbi-ta-laki-viznachennya-tovshchini-pl-vki.pdf>

Мета: перевірити однорідність товщини по ширині рулону.

Обладнання: мікрометр типу МК-25 або аналог, точність 1 мкм.

Методика: вирізають п'ять зразків з різних ділянок рулону (ліво, центр, право, початок і кінець). На кожному зразку вимірюють товщину у трьох точках, обчислюють середнє значення.

Оцінка: середня товщина повинна становити 20 ± 2 мкм; різниця між мінімальним і максимальним значенням — не більше 10 %.

3. Визначення ширини рулону

Обладнання: металева лінійка або рулетка.

Методика: рулон розкладають на рівній поверхні та вимірюють відстань між краями полотна у трьох точках по довжині.

Оцінка: середня ширина має бути $1,5 \pm 0,01$ м.

4. Визначення межі міцності при розтягуванні (ДСТУ ISO 527-3:2017 «Пластмаси. Визначення характеристик при розтягуванні. Частина 3. Плівки й листи», https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id_doc=75030)

Мета: оцінити міцність плівки під дією розтягувального навантаження.

Обладнання: розривна машина (тип РМ-50 або інша з точністю вимірювання 0,1 Н), затискачі для плівок, штангенциркуль.

Методика: вирізають зразки у вигляді смужок розміром 100×15 мм. Закріплюють у затискачах машини так, щоб довжина між затискачами становила 50 мм. Вмикають розтягування зі швидкістю 50 мм/хв до розриву. Фіксують максимальне навантаження F , при якому стався розрив.

Розраховують межу міцності:

$$\sigma = \frac{F}{S}$$

де S — площа поперечного перерізу зразка (ширина \times товщина).

Оцінка: межа міцності має бути не менше 20 МПа.

5. Визначення відносного подовження при розриві (ДСТУ ISO 527-3:2017 «Пластмаси. Визначення характеристик при розтягуванні. Частина 3. Плівки й листи», https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id_doc=75030)

Мета: визначити еластичність плівки.

Методика: використовують ті самі зразки, що й у попередньому випробуванні. Фіксують початкову довжину L_0 (50 мм) та довжину після розриву L_1 . Розраховують відносне подовження:

$$\varepsilon = \frac{L_1 - L_0}{L_0} \times 100\%$$

Оцінка: не менше 150 %.

6. *Визначення оптичної однорідності* (ISO 13468-1:2019. <https://www.iso.org/ru/standard/77312.html>)

Мета: перевірити рівномірність розподілу сажистого вуглецю.

Обладнання: лабораторний спектрофотометр або денситометр, зразки плівки (100×100 мм).

Методика: плівку прикладають до оптичного вікна приладу. Вимірюють світлопроникність у трьох точках по ділянці зразка при довжині хвилі 550 нм.

Оцінка: коефіцієнт непрозорості (100 – % пропускання) повинен становити не менше 90 %; різниця між точками — не більше ± 3 %.

7. *Визначення вологості плівки* (DIN EN ISO 15512-2014 Plastics - Determination of water content, <https://www.iso.org/standard/73834.html>)

Мета: визначити залишкову кількість води у готовій плівці.

Обладнання: сушильна шафа з терморегулятором, аналітичні ваги (точність 0,001 г), бюкси.

Методика: вирізають зразок масою близько 2 г. Зважують (m_1). Сушать у шафі при 105 °С протягом 2 годин. Охолоджують у ексикаторі 15 хв і повторно зважують (m_2).

Розраховують вміст води:

$$W = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100\%$$

Оцінка: не більше 0,5 %.

8. *Визначення біорозкладності (експрес-оцінка)* (Gutiérrez-Rial et al., 2025)

Мета: оцінити здатність плівки до біологічного розкладання в ґрунті.

Методика: вирізають зразки плівки (50×50 мм), висушують до постійної маси (m_0). Закопують у вологий ґрунт (вміст вологи 60 %, температура 25 °С) на глибину 5 см. Через 30, 60 і 90 діб зразки відкопують, промивають, висушують і зважують (m_1 , m_2 , m_3).

Розраховують ступінь біодеградації:

$$D = \frac{m_0 - m_t}{m_0} \times 100\%$$

Оцінка: після 180 діб ступінь біорозкладання має становити не менше 90 %.

9. *Визначення термічної стабільності*
(<https://promoboz.com/en/journal/2025/1-104april/vykorystannya-termichnyh-analizatoriv-u-farmatsevtichnyh-doslidzhennyah/>)

Мета: перевірити температуру плавлення та відсутність термодеструкції.

Обладнання: лабораторна піч або DSC-аналізатор (за наявності).

Методика (термічний спосіб): вирізають смужку плівки. Нагрівають у повітряному середовищі з кроком +10 °С/хв. Візуально спостерігають момент плавлення (розм'якшення без потемніння).

Оцінка: плівка повинна рівномірно плавитися в інтервалі 155–165 °С без ознак деструкції (потемніння, димлення).

10. *Контроль маркування та маси рулону*

Обладнання: електронні ваги (до 50 кг, точність 0,01 кг).

Методика: кожен рулон зважують і звіряють з паспортною масою (розрахунок за щільністю і розмірами).

Оцінка: відхилення фактичної маси рулону не повинно перевищувати ± 2 %. Маркування має бути чітким і містити всю обов'язкову інформацію.

Результати контролю заносять у журнал випробувань із зазначенням номера партії, дати виготовлення та прізвища виконавця. Плівка, що відповідає всім вимогам за фізико-механічними, оптичними та зовнішніми показниками,

визнається придатною для використання як біорозкладна агроплівка для мульчування.

Таблиця 8.1

Узагальнена таблиця показників контролю агроплівки

Показник контролю	Нормативне значення / допуск	Примітка
Зовнішній вигляд	Поверхня гладка, без тріщин, складок, пухирців і сторонніх включень; рівномірне темно-сіре забарвлення	Не більше 2 незначних дефектів на 10 м ² поверхні
Товщина плівки	20 ± 5 % мкм	Вимірюється мікрометром у 5 точках по ширині
Міцність при розтягуванні	≥ 25 МПа (поздовжньо), ≥ 20 МПа (поперечно)	Визначається на розривній машині
Відносне подовження при розриві	≥ 250 %	За результатами розривного випробування
Густина	1,22 – 1,25 г/см ³	Пікнометричний метод при 20 °С
Водопоглинання	≤ 0,5 %	Зразок витримують 24 год у воді при 25 °С
Термостійкість	Без потемніння, деформацій, тріщин після 30 хв при 100 °С	Візуальний контроль
Однорідність розподілу сажистого вуглецю	Без скупчень часток > 20 мкм	Оптична мікроскопія або спектрофотометрія
Біорозкладність (втрати маси у ґрунті за 30 діб)	≥ 10 % втрати маси	Прискорений тест у ґрунті при 28 °С, вологості 60 %

РОЗДІЛ 9

ПРОЄКТ ЗАЯВКИ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

Назва корисної моделі: «Біорозкладна мульчувальна плівка на основі полі(3-гідроксибутират-ко-3-гідроксигексаноату) з добавкою сажистого вуглецю»

9.1. Галузь і застосування корисної моделі

Корисна модель належить до галузі біотехнології, зокрема до виробництва біорозкладних полімерних матеріалів на основі полігідроксиалканоатів (ПГА), і може бути використана в сільському господарстві для мульчування ґрунту з метою покращення водного режиму, зменшення росту бур'янів, захисту від ерозії та збереження родючості.

Запропонована мульчувальна плівка виготовлена з мікробного полімеру полі(3-гідроксибутират-ко-3-гідроксигексаноату) (PHVNHx) із введенням сажистого вуглецю як наповнювача для підвищення міцності, термостійкості та УФ-стабільності. Біодеградація плівки після використання у ґрунті знижує негативний вплив на довкілля та усуває потребу в збиранні залишків плівки після завершення сезону.

9.2. Відомі аналоги та їх основні недоліки

Існує низка мульчувальних плівок, що використовуються в сільському господарстві для збереження вологи в ґрунті, контролю бур'янів та підтримання мікроклімату. Найпоширенішими є плівки на основі поліетилену (ПЕ), поліпропілену (ПП) та інших синтетичних полімерів нафтового походження. Такі матеріали мають низьку вартість і добрі фізико-механічні характеристики, проте не є біорозкладними, накопичуються в навколишньому середовищі, викликаючи забруднення ґрунтів і порушення мікробіоценозу (<https://www.fao.org/4/t0455e/T0455E0n.htm>).

					<i>НУХТ БТЕК 02.01.04 КР ПЗ</i>			
<i>Змн.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розроб.</i>		<i>Косовець І.Р.</i>			РОЗДІЛ 9 ПРОЄКТ ЗАЯВКИ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ	<i>Лім.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Перевір.</i>		<i>Стабніков В.П.</i>					103	122
<i>Реценз.</i>						<i>Кафедра БТМ</i>		
<i>Н. Контр.</i>								
<i>Затверд.</i>		<i>Стабніков В.П.</i>						

З метою зменшення екологічного навантаження розробляються також біорозкладні плівки на основі крохмалю, полілактиду (PLA), або сумішей полігідроксиалканоатів (ПГА), таких як полі(3-гідроксибутират) (PHB) (Omer, & Hassan, 2024). Проте:

- Плівки на основі крохмалю мають низьку водостійкість, швидко руйнуються під дією вологи, що обмежує тривалість їх застосування (Lee et al., 2020).
- Плівки з PLA є менш гнучкими та потребують промислових умов компостування для повного розкладу (Petinakis et al., 2010).
- Плівки з чистого PHB крихкі, мають низьку ударну в'язкість і обмежену термостійкість (Bugnicourt et al., 2015).
- Відомі також плівки на основі PHBННх — співполімеру PHB, що містить 3-гідроксигексаноатні ланки, який має кращу гнучкість і еластичність. Однак навіть ці плівки можуть мати недостатню стійкість до механічних навантажень, а також до ультрафіолетового випромінювання (Díez-Pascual, 2021).

Крім того, у більшості відомих рішень не застосовуються функціональні наповнювачі, які б підвищували міцність, стійкість до УФ-випромінювання та контрольованість деградації плівки.

Отже, актуальним є створення біорозкладної мульчувальної плівки на основі PHBННх з додаванням екологічно безпечного функціонального наповнювача, зокрема сажистого вуглецю, що забезпечує покращені механічні та експлуатаційні властивості.

9.3. Постановка задачі корисної моделі та її вирішення

Задачею, на розв'язання якої спрямована запропонована корисна модель, є створення біорозкладної мульчувальної плівки, яка б поєднувала екологічну безпечність з покращеними механічними властивостями, стійкістю до дії

ультрафіолетового випромінювання, температурних коливань і біодеградації в умовах ґрунту.

Для досягнення цієї мети запропоновано мульчувальну плівку на основі полі(3-гідроксибутират-ко-3-гідроксигексаноату) (PHВННх), до складу якої введено сажистий вуглець у вигляді технічного вуглецю (carbon black) у низькій концентрації. Такий наповнювач виконує одночасно кілька функцій (Boukfessa, & Bezzazi, 2021):

- Підвищення механічної міцності плівки, зокрема розривного навантаження та опору розтягуванню.
- Покращення теплостійкості, що дозволяє використовувати плівку в умовах прямого сонячного випромінювання.
- Захист від ультрафіолетового випромінювання, що сповільнює фотодеструкцію полімеру під час експлуатації.
- Регуляція швидкості біодеградації за рахунок меншої проникності для вологи та газів.

Запропоноване технічне рішення забезпечує збалансовану комбінацію біорозкладності, довговічності в польових умовах, еластичності та екологічної безпечності, що робить плівку придатною для використання у сільськогосподарському мульчуванні без потреби у збиранні після завершення сезону вирощування культур.

Поставлена задача вирішується шляхом модифікації біополімерної основи РНВННх екологічно допустимим наповнювачем – сажистим вуглецем, з одночасним збереженням її здатності до біорозкладу в природних умовах.

9.4. Опис запропонованого способу

Запропонований спосіб отримання біорозкладної мульчувальної плівки на основі полі(3-гідроксибутират-ко-3-гідроксигексаноату) (РНВННх) з добавкою сажистого вуглецю включає наступні основні етапи:

1. Культивування мікроорганізму

Для синтезу РНВННх використовують штам *Cupriavidus necator* MF01/pBPP-ccrMeJAc-emd. Культивування здійснюють у ферментері об'ємом 5000 л за оптимальних умов (температура, рН, аерація), із живильним середовищем, що забезпечує високий вихід полімеру (Tanaka, Orita, & Fukui, 2025).

2. Виділення клітин та їх підготовка (Chen, Zhang, Park, & Lee, 2001)

Після завершення культивування клітини осаджують безпосередньо у ферментері шляхом додавання 1% Na_2HPO_4 , 1% CaCl_2 та 100 ppm поліакриламід, що сприяє коагуляції. Осад клітин відокремлюють за допомогою фільтр-преса для видалення вологи. Далі клітинний осад сушать у роторній вакуумній сушарці до отримання сухої біомаси. Сухий клітинний осад подрібнюють до порошкоподібного стану.

3. Екстракція та очищення РНВННх (Chen, Zhang, Park, & Lee, 2001)

ПГА екстрагують з 200–500 кг сухого клітинного порошку у великому екстракційному резервуарі (30 000 л), заповненому 5000 л етилацетату. Процес екстракції відбувається при 60 °С із легким перемішуванням протягом 2 годин. Розчин полімеру пропускають через металевий фільтр з розміром пор 2 мкм, а потім центрифугують для видалення залишків клітин.

4. Додаткове очищення ПГА (Chen, Zhang, Park, & Lee, 2001)

Для осадження РНВННх до розчину додають 4000 л гексану. Розчинники відновлюють та повторно використовують. Осад полімеру збирають за допомогою фільтр-преса. Далі осад промивають тричі етанолом для видалення залишкових органічних домішок та лауринової кислоти.

5. Сушка та підготовка полімеру до формування (Chen, Zhang, Park, & Lee, 2001)

Промитий полімер сушать у вакуумній камері протягом ночі до стабільного стану. Сухі пластини зберігаються на складі, а потім перед застосуванням – подрібнюються до стану грубодисперсного порошку.

6. Підготовка композиції з сажистим вуглецем

Висушений РНВННх порошок змішують із сажистим вуглецем у концентрації 0,5–2 мас.%, забезпечуючи рівномірний розподіл частинок сажистого вуглецю. Суміш ретельно гомогенізують для запобігання агломерації.

7. Формування плівки

Отриману композицію нагрівають до температури плавлення (приблизно 150–180 °С) і формують плівку методом екструзії або калібрувального лиття. Плівку охолоджують і намотують у рулони товщиною 20 мкм, оптимальну для застосування в мульчуванні (Yoo-Kyoung et al., 2024).

8. Контроль якості

Перевіряють механічні характеристики (міцність на розрив, еластичність), стійкість до УФ-випромінювання, теплостійкість і біорозкладність отриманої плівки (Yoo-Kyoung et al., 2024).

9.5. Формула корисної моделі

1. Біорозкладна мульчувальна плівка, що містить полі(3-гідроксибутират-ко-3-гідроксигексаноат) (РНВННх) як полімерну матрицю, яка відрізняється тим, що до складу плівки введено сажистий вуглець у кількості 0,5–2 мас.%, що підвищує механічні властивості, теплостійкість і ультрафіолетову стабільність при збереженні біорозкладності.

2. Плівка за п. 1, яка відрізняється тим, що товщина плівки становить 20 мкм.

3. Плівка за п. 1 або 2, яка відрізняється тим, що сажистий вуглець рівномірно розподілений у полімерній матриці.

4. Спосіб одержання плівки за пп. 1–3, який включає культивування *Cupriavidus necator* MF01/pBPP-ccrMeJAc-emd для синтезу РНВННх, виділення та очищення полімеру методом екстракції етилацетатом із наступним осадженням гексаном або гептаном, сушінням, змішуванням з сажистим вуглецем у концентрації 0,5–2 мас.% та формуванням плівки методом екструзії при температурі 150–180 °С.

9.6. Реферат

Корисна модель належить до галузі біотехнології та полімерних матеріалів і стосується біорозкладної мульчувальної плівки на основі полі(3-гідроксибутират-ко-3-гідроксигексаноату) (PHВННх) з додаванням сажистого вуглецю як функціонального наповнювача. Плівка призначена для застосування у сільському господарстві з метою мульчування ґрунту, що дозволяє зберігати вологу, контролювати ріст бур'янів, захищати ґрунт від ерозії та підвищувати врожайність.

Запропонований спосіб виготовлення включає культивування *S. necator* MF01/pBPP-ccrMeJAc-emd для біосинтезу PHВННх, промислове виділення та очищення полімеру методом екстракції етилацетатом з подальшим осадженням, сушінням, змішуванням з сажистим вуглецем у концентрації 0,5–5 мас.% та формуванням плівки методом екструзії.

Введення сажистого вуглецю у склад плівки підвищує її механічні характеристики, теплостійкість та ультрафіолетову стабільність, при цьому зберігається біорозкладність матеріалу, що забезпечує екологічну безпеку використання плівки.

Отримана плівка є ефективним біорозкладним матеріалом для сільськогосподарського мульчування, що сприяє зниженню забруднення навколишнього середовища та підвищенню сталості агровиробництва.

ВИСНОВКИ

Полігидроксиалканоати залишаються одним із найбільш перспективних класів біополімерів, здатних замінити традиційні нафтохімічні полімери завдяки біорозкладності, біосумісності та достатньо високим фізико-механічним параметрам. Особливий практичний інтерес становлять кополімери, зокрема РНВННх, що мають покращену гнучкість та стабільність.

Бактерії та рекомбінантні штами є найбільш ефективними продуцентами ПГА. Порівняно з археями та ціанобактеріями вони забезпечують значно вищі концентрації полімерів, простіші умови культивування та кращий контроль процесу. Окремі рекомбінантні штами здатні накопичувати понад 80 г/л ПГА, що робить їх найбільш продуктивною групою біокаталізаторів.

Рослинна сировина є економічно та екологічно доцільною основою для отримання субстратів. Лігноцелюлозні відходи, олійні культури, залишки переробки сільськогосподарської продукції (меляса, макуха, гідролізати бульб та стебел) після обробки стають доступним джерелом моносахаридів та жирних кислот для мікробного синтезу ПГА.

Реальні промислові схеми біосинтезу ПГА орієнтуються на комбіновані технології, що включають послідовні стадії екстракції, очищення, осадження та сушіння полімеру. Критичним параметром є мінімізація вартості екстрагентів та енергетичних витрат.

Найбільш доцільним для промислової реалізації є використання рекомбінантних штамів *Cupriavidus necator*, оптимізованих для споживання рослинних гідролікатів і модифікованих для накопичення кополімерів типу РНВННх. Це відповідає вимогам високого виходу, стабільності та можливості масштабування.

Використання рослинної сировини як основи для біосинтезу ПГА відповідає принципам «зеленої» біотехнології, сприяє зменшенню залежності від нафтопродуктів і дозволяє інтегрувати процес у цикли переробки агропромислових відходів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

Acharjee, S. A., Bharali, P., Gogoi, B., Sorhie, V., Walling, B., & Alemtoshi. (2023). PHA-based bioplastic: A potential alternative to address microplastic pollution. *Water, Air, & Soil Pollution*, 234(1), 21. <https://doi.org/10.1007/s11270-022-06029-2>

Alsafadi, D., Al-Mashaqbeh, O., Mansour, A., & Alsaad, M. (2020). Optimization of nitrogen source supply for enhanced biosynthesis and quality of poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) by extremely halophilic archaeon *Haloferax mediterranei*. *MicrobiologyOpen*, 9(8), e1055. <https://doi.org/10.1002/mbo3.1055>

Alvarez-Santullano, N., Villegas, P., Mardones, M. S., Durán, R. E., Donoso, R., González, A., ... & Seeger, M. (2021). Genome-wide metabolic reconstruction of the synthesis of polyhydroxyalkanoates from sugars and fatty acids by *Burkholderia sensu lato* species. *Microorganisms*, 9(6), 1290. <https://www.mdpi.com/2076-2607/9/6/1290#>

Alves, M. I., Macagnan, K. L., Rodrigues, A. A., de Assis, D. A., Torres, M. M., de Oliveira, P. D., ... & Moreira, A. D. S. (2017). Poly (3-hydroxybutyrate)-P (3HB): review of production process technology. *Industrial Biotechnology*, 13(4), 192-208. <http://dx.doi.org/10.1089/ind.2017.0013>

Amelia, T. S. M., Govindasamy, S., Tamothran, A. M., Vigneswari, S., & Bhubalan, K. (2019). Applications of PHA in agriculture. *Biotechnological applications of polyhydroxyalkanoates*, 347-361. http://dx.doi.org/10.1007/978-981-13-3759-8_13

Andreeßen, B., Taylor, N., & Steinbüchel, A. (2014). Poly (3-hydroxypropionate): a promising alternative to fossil fuel-based materials. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(21), 6574-6582. <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.02361-14>

Aneesh, B., Jaya Kumar, A., Kavitha, T., & Harikrishnan, K. (2016). Production of short chain length polyhydroxyalkanoates by *Bacillus megaterium*

PHB29 from starch feed stock. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 5(7), 816-823. <http://dx.doi.org/10.20546/ijcmas.2016.507.094>

Banu, J. R., Kumar, M. D., Gunasekaran, M., & Kumar, G. (2019). Biopolymer production in bio electrochemical system: literature survey. *Bioresource Technology Reports*, 7, 100283. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2019.100283>

Bedade, D. K., Edson, C. B., & Gross, R. A. (2021). Emergent approaches to efficient and sustainable polyhydroxyalkanoate production. *Molecules*, 26(11), 3463. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules26113463>

Bhanderi, K. K., Joshi, J. R., & Patel, J. V. (2023). Recycling of polyethylene terephthalate (PET Or PETE) plastics—An alternative to obtain value added products: A review. *Journal of the Indian Chemical Society*, 100(1), 100843. <https://doi.org/10.1016/j.jics.2022.100843>

Boukfessa, H., & Bezzazi, B. (2021). The effect of carbon black on the curing and mechanical properties of natural rubber/acrylonitrile-butadiene rubber composites. *Journal of applied research and technology*, 19(3), 194-201. <https://doi.org/10.22201/icat.24486736e.2021.19.3.1686>

Bugnicourt, E., Cinelli, P., Lazzeri, A., & MARTINEZ ALVAREZ, P. V. (2015). The main characteristics, properties, improvements, and market data of polyhydroxyalkanoates. In *Chapter 24th in Handbook of sustainable polymers processing and applications* (pp. 899-928). Pan Stanford Published. <http://dx.doi.org/10.1201/b19600-25>

Campanale, C., Galafassi, S., Di Pippo, F., Pojar, I., Massarelli, C., & Uricchio, V. F. (2024). A critical review of biodegradable plastic mulch films in agriculture: Definitions, scientific background and potential impacts. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 170, 117391. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2023.117391>

Chen, G., Zhang, G., Park, S., & Lee, S. (2001). Industrial scale production of poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate). *Applied microbiology and biotechnology*, 57, 50-55. <https://doi.org/10.1007/s002530100755>

Cinelli, P., Coltelli, M. B., Signori, F., Morganti, P., & Lazzeri, A. (2019). Cosmetic packaging to save the environment: Future perspectives. *Cosmetics*, 6(2), 26. <http://dx.doi.org/10.3390/cosmetics6020026>

Corrêa, P. S., & Teixeira, C. M. L. L. (2021). Polyhydroxyalkanoates and pigments coproduction by *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* cultivated in crude glycerol. *Journal of Applied Phycology*, 33(3), 1487-1500. <https://doi.org/10.1007/s10811-021-02373-8>

da Silva, C. K., Costa, J. A. V., & de Morais, M. G. (2018). Polyhydroxybutyrate (PHB) synthesis by *Spirulina* sp. LEB 18 using biopolymer extraction waste. *Applied biochemistry and biotechnology*, 185, 822-833. <https://doi.org/10.1007/s12010-017-2687-x>

Díez-Pascual, A. M. (2021). Effect of graphene oxide on the properties of poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate). *Polymers*, 13(14), 2233. <http://dx.doi.org/10.3390/polym13142233>

Eraslan, K., Aversa, C., Nofar, M., Barletta, M., Gisario, A., Salehiyan, R., & Goksu, Y. A. (2022). Poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate)(PHBH): Synthesis, properties, and applications-A review. *European Polymer Journal*, 167, 111044. <http://dx.doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2022.111044>

Evangeline, S., & Sridharan, T. B. (2019). Biosynthesis and statistical optimization of polyhydroxyalkanoate (PHA) produced by *Bacillus cereus* VIT-SSR1 and fabrication of biopolymer films for sustained drug release. *International journal of biological macromolecules*, 135, 945-958. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.05.163>

Flores-Sánchez, A., Rathinasabapathy, A., del Rocío López-Cuellar, M., Vergara-Porras, B., & Pérez-Guevara, F. (2020). Biosynthesis of polyhydroxyalkanoates from vegetable oil under the co-expression of *fadE* and *phaJ* genes in *Cupriavidus necator*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 164, 1600-1607. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.07.275>

Gatea, I. H., Sabr, A. B., Wahed, E. A., Abbas, A. H., Halob, A. A., & Mahmood, M. S. (2019, November). Isolation and characterization of local *Azotobacter* isolate) producing bio-plastics and consuming waste vegetable oils. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 388, No. 1, p. 012082). IOP Publishing. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/388/1/012082>

Ghosh, S., Gnaim, R., Greiserman, S., Fadeev, L., Gozin, M., & Golberg, A. (2019). Macroalgal biomass subcritical hydrolysates for the production of polyhydroxyalkanoate (PHA) by *Haloferax mediterranei*. *Bioresource technology*, 271, 166-173. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.09.108>

Gugumus, F. (2002). Possibilities and limits of synergism with light stabilizers in polyolefins 2. UV absorbers in polyolefins. *Polymer degradation and stability*, 75(2), 309-320. [http://dx.doi.org/10.1016/S0141-3910\(01\)00232-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0141-3910(01)00232-4)

Gutiérrez-Rial, D., Villar, I., Feijóo, P., Soto, B., Garrido, J., & Mato, S. (2025). Biodegradation assessment tests of biopolymers in standardised water: different sources of variability. *Biodegradation*, 36(3), 46. <https://doi.org/10.1007/s10532-025-10143-3>

Harada, J., N. Macedo, J. R., F. Machado, G. A., Valenzuela-Díaz, F., AB Moura, E., & S. Rosa, D. (2016). Effects of carbon black incorporation on morphological, mechanical and thermal properties of biodegradable films. *Characterization of Minerals, Metals, and Materials 2016*, 697-704. https://doi.org/10.1007/978-3-319-48210-1_88

Hokamura, A., Yunoue, Y., Goto, S., & Matsusaki, H. (2017). Biosynthesis of polyhydroxyalkanoate from steamed soybean wastewater by a recombinant strain of *Pseudomonas* sp. 61-3. *Bioengineering*, 4(3), 68. <https://doi.org/10.3390/bioengineering4030068>

Jacquel, N., Lo, C. W., Wei, Y. H., Wu, H. S., & Wang, S. S. (2008). Isolation and purification of bacterial poly (3-hydroxyalkanoates). *Biochemical engineering journal*, 39(1), 15-27. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bej.2007.11.029>

Jha, S., Akula, B., Enyioma, H., Novak, M., Amin, V., & Liang, H. (2024). Biodegradable Biobased Polymers: A Review of the State of the Art, Challenges, and Future Directions. *Polymers*, *16*(16), 2262. <https://doi.org/10.3390/polym16162262>

Jiang GuoZhan, J. G., Hill, D. J., Kowalczyk, M., Johnston, B., Adamus, G., Irorere, V., & Radecka, I. (2016). Carbon sources for polyhydroxyalkanoates and an integrated biorefinery. *International Journal of Molecular Sciences*, *17*(7):1157. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms17071157>

Jo, S. Y., Sohn, Y. J., Park, S. Y., Son, J., Yoo, J. I., Baritugo, K. A., ... & Park, S. J. (2021). Biosynthesis of polyhydroxyalkanoates from sugarcane molasses by recombinant *Ralstonia eutropha* strains. *Korean Journal of Chemical Engineering*, *38*(7), 1452-1459. <https://doi.org/10.1007/s11814-021-0783-7>

Khampod, T., Wongsirichot, P., & Winterburn, J. (2023). Production of polyhydroxyalkanoates from hydrolysed rapeseed meal by *Haloferax mediterranei*. *Bioresource Technology*, *386*, 129541. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.129541>

Khomlaem, C., Aloui, H., & Kim, B. S. (2021). Biosynthesis of polyhydroxyalkanoates from defatted *Chlorella* biomass as an inexpensive substrate. *Applied Sciences*, *11*(3), 1094. <https://doi.org/10.3390/app11031094>

Koller, M. (2018). Biodegradable and biocompatible polyhydroxy-alkanoates (PHA): auspicious microbial macromolecules for pharmaceutical and therapeutic applications. *Molecules*, *23*(2), 362. <https://doi.org/10.3390/molecules23020362>

Koller, M., Atlić, A., Dias, M., Reiterer, A., & Braunegg, G. (2010). Microbial PHA production from waste raw materials. *Plastics from bacteria: natural functions and applications*, 85-119. http://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-03287-5_5

Koller, M., Maršálek, L., de Sousa Dias, M. M., & Braunegg, G. (2017). Producing microbial polyhydroxyalkanoate (PHA) biopolyesters in a sustainable manner. *New biotechnology*, *37*, 24-38. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nbt.2016.05.001>

Kovalcik, A., Meixner, K., Mihalic, M., Zeilinger, W., Fritz, I., Fuchs, W., ... & Drosig, B. (2017). Characterization of polyhydroxyalkanoates produced by

Synechocystis salina from digestate supernatant. *International journal of biological macromolecules*, 102, 497-504. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.04.054>

Kusuma, H. S., Sabita, A., Putri, N. A., Azliza, N., Illiyanasafa, N., Darmokoesoemo, H., ... & Kurniawan, T. A. (2024). Waste to wealth: Polyhydroxyalkanoates (PHA) production from food waste for a sustainable packaging paradigm. *Food Chemistry: Molecular Sciences*, 9, 100225. <https://doi.org/10.1016/j.fochms.2024.100225>

Le Delliou, B. (2021). *Design of poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) based films for flexible food packaging in contact with fatty food and under frozen conditions* (Doctoral dissertation, Université Paris-Saclay).

Lee, J. S., Lee, E. S., & Han, J. (2020). Enhancement of the water-resistance properties of an edible film prepared from mung bean starch via the incorporation of sunflower seed oil. *Scientific reports*, 10(1), 13622. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-70651-5>

Li, H. L., Deng, R. X., Wang, W., Liu, K. Q., Hu, H. B., Huang, X. Q., & Zhang, X. H. (2021). Biosynthesis and characterization of medium-chain-length polyhydroxyalkanoate with an enriched 3-hydroxydodecanoate monomer from a *Pseudomonas chlororaphis* cell factory. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69(13), 3895-3903. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c00500>

Li, J., Yun, H., Gong, Y., Zhao, N., & Zhang, X. (2005). Effects of surface modification of poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate)(PHBHHx) on physicochemical properties and on interactions with MC3T3-E1 cells. *Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 75(4), 985-998. <http://dx.doi.org/10.1002/jbm.a.30504>

Ma, X., Wang, Z., Ma, B., Zhang, L., Tian, J., & He, J. (2025). Effects of Plastic Film and Gravel-Sand Mulching on Soil Moisture and Yield of Wolfberry Under

Ridge-Furrow Planting in an Arid Desert Region of China's Loess Plateau. *Agronomy*, 15(10), 2312. <https://doi.org/10.3390/agronomy15102312>

Mahato, R. P., Kumar, S., & Singh, P. (2021). Optimization of growth conditions to produce sustainable polyhydroxyalkanoate bioplastic by *Pseudomonas aeruginosa* EO1. *Frontiers in Microbiology*, 12, 711588. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.711588>

Mai, J., Kockler, K., Parisi, E., Chan, C. M., Pratt, S., & Laycock, B. (2024). Synthesis and physical properties of polyhydroxyalkanoate (PHA)-based block copolymers: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 263, 130204. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.130204>

Mansoor, Z., Tchuenbou-Magaia, F., Kowalczyk, M., Adamus, G., Manning, G., Parati, M., ... & Khan, H. (2022). Polymers use as mulch films in agriculture—a review of history, problems and current trends. *Polymers*, 14(23), 5062. <https://doi.org/10.3390/polym14235062>

Meereboer, K. W., Misra, M., & Mohanty, A. K. (2020). Review of recent advances in the biodegradability of polyhydroxyalkanoate (PHA) bioplastics and their composites. *Green Chemistry*, 22(17), 5519-5558. <https://doi.org/10.1039/D0GC01647K>

Mendhulkar, V. D., & Shetye, L. A. (2017). Synthesis of biodegradable polymer polyhydroxyalkanoate (PHA) in cyanobacteria *Synechococcus elongates* under mixotrophic nitrogen-and phosphate-mediated stress conditions. *Industrial Biotechnology*, 13(2), 85-93. <https://doi.org/10.1089/ind.2016.0021>

Mohandas, S. P., Balan, L., Jayanath, G., Anoop, B. S., Philip, R., Cubelio, S. S., & Singh, I. B. (2018). Biosynthesis and characterization of polyhydroxyalkanoate from marine *Bacillus cereus* MCCB 281 utilizing glycerol as carbon source. *International journal of biological macromolecules*, 119, 380-392. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.07.044>

Mota, C., Wang, S. Y., Puppi, D., Gazzarri, M., Migone, C., Chiellini, F., ... & Chiellini, E. (2017). Additive manufacturing of poly [(R)-3-hydroxybutyrate-co-(R)-

3-hydroxyhexanoate] scaffolds for engineered bone development. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 11(1), 175-186. <https://doi.org/10.1002/term.1897>

Nagajothi, K., & Murugesan, A. G. (2023). Polyhydroxy butyrate biosynthesis by *Azotobacter chroococcum* MTCC 3858 through groundnut shell as lignocellulosic feedstock using resource surface methodology. *Scientific Reports*, 13(1), 10743. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-15672-y>

Nguyen, T. L. A., Tran, H. T. T., Quach, T. M. T., Dao, Y. H., Duong, H. C., Doan, O. T., ... & Tran, L. T. T. (2024). Biopolymer polyhydroxyalkanoate production from *Arthrospira platensis* NLHT3 cyanobacterium isolated in Vietnam. *Environmental Technology & Innovation*, 36, 103841. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2024.103841>

Obruca, S., Benesova, P., Petrik, S., Oborna, J., Prikryl, R., & Marova, I. (2014). Production of polyhydroxyalkanoates using hydrolysate of spent coffee grounds. *Process biochemistry*, 49(9), 1409-1414. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2014.05.013>

Obulisamy, P. K., & Mehariya, S. (2021). Polyhydroxyalkanoates from extremophiles: a review. *Bioresource technology*, 325, 124653. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124653>

Oh, S. J., Lim, G., Han, Y., Kim, W., Joo, H. S., Kim, Y. G., ... & Yang, Y. H. (2025). High-Yield Production of Polyhydroxybutyrate and Poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) from Crude Glycerol by a Newly Isolated Burkholderia Species Oh_219. *Polymers*, 17(2), 197. <https://doi.org/10.3390/polym17020197>

Oh, Y. H., Lee, S. H., Jang, Y. A., Choi, J. W., Hong, K. S., Yu, J. H., ... & Park, S. J. (2015). Development of rice bran treatment process and its use for the synthesis of polyhydroxyalkanoates from rice bran hydrolysate solution. *Bioresource Technology*, 181, 283-290. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.01.075>

Oliver-Cuenca, V., Salaris, V., Muñoz-Gimena, P. F., Agüero, Á., Peltzer, M. A., Montero, V. A., ... & Peponi, L. (2024). Bio-Based and Biodegradable Polymeric

Materials for a Circular Economy. *Polymers*, 16(21), 3015.
<https://doi.org/10.3390/polym16213015>

Omer, S. S., & Hassan, N. E. (2024). Application of biodegradable plastic and their environmental impacts: A review. *World Journal of Advanced Research and Reviews*, 21(1), 2139-2148. <http://dx.doi.org/10.30574/wjarr.2024.21.1.0155>

Othman, N. A. F., Selambakkannu, S., & Seko, N. (2022). Biodegradable dual-layer polyhydroxyalkanoate (pha)/polycaprolactone (pcl) mulch film for agriculture: Preparation and characterization. *Energy Nexus*, 8, 100137.
<https://doi.org/10.1016/j.nexus.2022.100137>

Pan, L., Li, J., Wang, R., Wang, Y., Lin, Q., Li, C., & Wang, Y. (2021). Biosynthesis of polyhydroxyalkanoate from food waste oil by *Pseudomonas alcaligenes* with simultaneous energy recovery from fermentation wastewater. *Waste Management*, 131, 268-276. <http://dx.doi.org/10.1016/j.wasman.2021.06.008>

Pan, P., Liang, Z., Nakamura, N., Miyagawa, T., & Inoue, Y. (2009). Uracil as Nucleating Agent for Bacterial Poly [(3-Hydroxybutyrate)-co-(3-hydroxyhexanoate)] Copolymers. *Macromolecular bioscience*, 9(6), 585-595.
https://doi.org/10.1002/mabi.200800294?urlappend=%3Futm_source%3Dresearchgate

Petinakis, E., Liu, X., Yu, L., Way, C., Sangwan, P., Dean, K., ... & Edward, G. (2010). Biodegradation and thermal decomposition of poly (lactic acid)-based materials reinforced by hydrophilic fillers. *Polymer Degradation and Stability*, 95(9), 1704-1707. <http://dx.doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2010.05.027>

Pillai, A. B., Kumar, A. J., Thulasi, K., & Kumarapillai, H. (2017). Evaluation of short-chain-length polyhydroxyalkanoate accumulation in *Bacillus aryabhatai*. *Brazilian journal of microbiology*, 48, 451-460.
<https://doi.org/10.1016/j.bjm.2017.01.005>

Poltronieri, P., & Kumar, P. (2017). Polyhydroxyalkanoates (PHAs) in industrial applications. *Handbook of ecomaterials*, 4, 2843-2872.
http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-68255-6_70

Pramanik, N., Das, R., Rath, T., & Kundu, P. P. (2014). Microbial degradation of linseed oil-based elastomer and subsequent accumulation of poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) copolymer. *Applied biochemistry and biotechnology*, 174, 1613-1630. <http://dx.doi.org/10.1007/s12010-014-1061-5>

Price, S., Kuzhiumparambil, U., Pernice, M., & Ralph, P. J. (2020). Cyanobacterial polyhydroxybutyrate for sustainable bioplastic production: critical review and perspectives. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 8(4), 104007. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.104007>

Raho, S., Carofiglio, V. E., Montemurro, M., Miceli, V., Centrone, D., Stufano, P., ... & Rizzello, C. G. (2020). Production of the polyhydroxyalkanoate PHBV from ricotta cheese exhausted whey by *Haloferax mediterranei* fermentation. *Foods*, 9(10), 1459. <https://doi.org/10.3390/foods9101459>

Raza, Z. A., Abid, S., & Banat, I. M. (2018). Polyhydroxyalkanoates: Characteristics, production, recent developments and applications. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 126, 45-56. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.10.001>

Sarmiento-Vásquez, Z., Vandenberghe, L. P. D. S., Karp, S. G., & Soccol, C. R. (2022). Production of polyhydroxyalkanoates through soybean hull and waste glycerol valorization: Subsequent alkaline pretreatment and enzymatic hydrolysis. *Fermentation*, 8(9), 433. <https://doi.org/10.3390/fermentation8090433>

Sathiyarayanan, G., Bhatia, S. K., Song, H. S., Jeon, J. M., Kim, J., Lee, Y. K., ... & Yang, Y. H. (2017). Production and characterization of medium-chain-length polyhydroxyalkanoate copolymer from Arctic psychrotrophic bacterium *Pseudomonas* sp. PAMC 28620. *International journal of biological macromolecules*, 97, 710-720. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.01.053>

Sehgal, R., & Gupta, R. (2020). Polyhydroxyalkanoate and its efficient production: an eco-friendly approach towards development. *3 Biotech*, 10(12), 549. <https://doi.org/10.1007/s13205-020-02550-5>

Semeniuk, I., Pokynbroda, T., Kochubei, V., Midyana, H., Karpenko, O., & Skorokhoda, V. (2020). Biosynthesis and characteristics of polyhydroxyalkanoates. 1. polyhydroxybutyrates of *Azotobacter vinelandii* n-15. *Chemistry and Chemical Technology*, *14*(4), 463-67. <https://doi.org/10.23939/chcht14.04.463>

Slaninova, E., Sedlacek, P., Mravec, F., Mullerova, L., Samek, O., Koller, M., ... & Obruca, S. (2018). Light scattering on PHA granules protects bacterial cells against the harmful effects of UV radiation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *102*, 1923-1931. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-8760-8>

Steinbüchel, A., & Hein, S. (2001). Biochemical and molecular basis of microbial synthesis of polyhydroxyalkanoates in microorganisms. *Biopolyesters*, 81-123. http://dx.doi.org/10.1007/3-540-40021-4_3

Stublić, K., Ranilović, J., Ocelić Bulatović, V., & Kučić Grgić, D. (2024). Advancing Sustainability: Utilizing Bacterial Polyhydroxyalkanoate for Food Packaging. *Processes*, *12*(9), 1886. <https://doi.org/10.3390/pr12091886>

Tan, G. Y. A., Chen, C. L., Li, L., Ge, L., Wang, L., Razaad, I. M. N., ... & Wang, J. Y. (2014). Start a research on biopolymer polyhydroxyalkanoate (PHA): a review. *Polymers*, *6*(3), 706-754. <https://doi.org/10.3390/polym6030706>

Tan, Q., Yang, L., Wei, F., Chen, Y., & Li, J. (2023). Comparative life cycle assessment of polyethylene agricultural mulching film and alternative options including different end-of-life routes. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, *178*, 113239. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2023.113239>

Tanaka, K., Orita, I., & Fukui, T. (2025). Efficient Production of High-Concentration Poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) from CO₂ Employing the Recombinant of *Cupriavidus necator*. *Bioengineering*, *12*(6), 557. <https://doi.org/10.3390/bioengineering12060557>

Tanweer, S., & Panda, B. (2020). Prospect of *Synechocystis* sp. PCC 6803 for synthesis of poly (3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate). *Algal Research*, *50*, 101994. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.101994>

Vanheusden, C., Vanminsel, J., Reddy, N., Samyn, P., D'Haen, J., Peeters, R., ... & Buntinx, M. (2023). Fabrication of poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) Fibers Using Centrifugal Fiber Spinning: Structure, Properties and Application Potential. *Polymers*, *15*(5), 1181. <https://doi.org/10.3390/polym15051181>

Vigneswari, S., Noor, M. S. M., Amelia, T. S. M., Balakrishnan, K., Adnan, A., Bhubalan, K., ... & Ramakrishna, S. (2021). Recent advances in the biosynthesis of polyhydroxyalkanoates from lignocellulosic feedstocks. *Life*, *11*(8), 807. <http://dx.doi.org/10.3390/life11080807>

Virov, P. (2013). Polyhydroxyalkanoates: Biodegradable polymers and plastics from renewable resources. *Mater. Technol*, *47*, 5-12.

Volova, T. G., Kiselev, E. G., Demidenko, A. V., Zhila, N. O., Nemtsev, I. V., & Lukyanenko, A. V. (2021). Production and properties of microbial polyhydroxyalkanoates synthesized from hydrolysates of Jerusalem artichoke tubers and vegetative biomass. *Polymers*, *14*(1), 132. <https://doi.org/10.3390/polym14010132>

Walsh, M., O'Connor, K., Babu, R., Woods, T., & Kenny, S. (2015). Plant oils and products of their hydrolysis as substrates for polyhydroxyalkanoate synthesis. *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*, *29*(2), 123-133. <http://dx.doi.org/10.15255/CABEQ.2014.2252>

Williams, S. F., Rizk, S., & Martin, D. P. (2013). Poly-4-hydroxybutyrate (P4HB): a new generation of resorbable medical devices for tissue repair and regeneration. *Biomedizinische Technik/Biomedical Engineering*, *58*(5), 439-452. <https://doi.org/10.1515/bmt-2013-0009>

Wongsirichot, P., Muanruksa, P., Kaewkannetra, P., & Winterburn, J. (2021). Comprehensive optimization of tropical biomass hydrolysis for nitrogen-limited medium-chain polyhydroxyalkanoate synthesis. *Waste Management*, *128*, 221-231. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2021.04.062>

Yabueng, N., & Napathorn, S. C. (2018). Toward non-toxic and simple recovery process of poly (3-hydroxybutyrate) using the green solvent 1, 3-

<http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2018.02.025>

Yang, H. X., Sun, M., Zhang, Y., & Zhou, P. (2011). Degradable PHBHHx Modified by the Silk Fibroin for the Applications of Cardiovascular Tissue Engineering, *ISRN Materials Science. Article ID*, 389872(11). <http://dx.doi.org/10.5402/2011/389872>

Yang, M., Liu, M., Cheng, J., & Wang, H. (2021). A movable type bioelectronics printing technology for modular fabrication of biosensors. *Scientific Reports*, 11(1), 22323. <https://www.nature.com/articles/s41598-021-01741-1>

Yang, Y., Song, X., Sui, X., Qi, B., Wang, Z., Li, Y., & Jiang, L. (2016). Rosemary extract can be used as a synthetic antioxidant to improve vegetable oil oxidative stability. *Industrial Crops and Products*, 80, 141-147. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.11.044>

Yin, J., Wang, H., Fu, X. Z., Gao, X., Wu, Q., & Chen, G. Q. (2015). Effects of chromosomal gene copy number and locations on polyhydroxyalkanoate synthesis by *Escherichia coli* and *Halomonas* sp. *Applied microbiology and biotechnology*, 99, 5523-5534. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-6510-8>

Zhou, W., Bergsma, S., Colpa, D. I., Euverink, G. J. W., & Krooneman, J. (2023). Polyhydroxyalkanoates (PHAs) synthesis and degradation by microbes and applications towards a circular economy. *Journal of Environmental Management*, 341, 118033. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2023.118033>

Zielińska, M., & Bułkowska, K. (2024). Agricultural Wastes and Their By-Products for the Energy Market. *Energies*, 17(9), 2099. <https://doi.org/10.3390/en17092099>

Карлаш, Ю. В. Основи проєктування біотехнологічних виробництв [Електронний ресурс] : навч. посібник / Ю. В. Карлаш, В. О. Красінько ; Національний університет харчових технологій. – Київ : НУХТ, 2022. – 373 с.